

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Ludwig-Maximilians-Universität München – Innenstadt

Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Frieese

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Katharina Flatscher

aus
Bad Reichenhall

2014

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: PD Dr. med. Katrin Karl

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Rainer A. Wiedemann
Prof. Dr. med. Adelbert Roscher

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Univ. Prof. Dr. Horst Steiner

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 10. April 2014

MEINER FAMILIE

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	7
1 EINLEITUNG	9
1.1 Präeklampsie.....	9
1.1.1 Definition	9
1.1.2 Ursachen und Risikofaktoren	11
1.1.3 Pathophysiologie.....	11
1.1.4 Diagnostik und Prävention	12
1.2 Pentraxin	14
1.2.1 Struktur	14
1.2.2 Funktionen	15
1.2.3 Pathophysiologisches Vorkommen	16
1.2.4 PTX-3 in der Schwangerschaft	17
2 ZIELE UND FRAGESTELLUNGEN der vorliegenden Arbeit	18
3 METHODIK	19
3.1 Studiendesign.....	19
3.2 Patientinnen	19
3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien.....	20
3.2.2 Aufnahmeuntersuchung.....	21
3.2.3 Studienkontrollen	21
3.3 Datenerfassung	22
3.3.1 Einverständnis	23
3.3.2 Datenschutz	23
3.4 Untersuchungsverfahren	23
3.4.1 Ultraschall und Dopplerultraschall der Ae. uterinae	23

3.4.2	Urin	26
3.4.3	Maternale Untersuchung.....	26
3.5	Pentraxin-3-Messung	26
3.5.1	Verwendete Proben	27
3.5.2	Testprinzip	27
3.6	Statistische Auswertung	28
4	ERGEBNISSE.....	29
4.1	Deskriptive Analyse der Studiendaten.....	29
4.1.1	Maternale Daten	30
4.1.2	Blutdruck.....	31
4.1.3	Entbindung.....	31
4.2	Analyse der Dopplersonogramme	33
4.2.1	Pulsatility-Index.....	33
4.2.2	Notches.....	34
4.3	Pentraxin-3-Konzentrationen.....	35
4.3.1	Normalwerte und Perzentilenverteilung	35
4.3.2	Postpartale PTX-3-Konzentrationen	39
4.4	Korrelation einzelner Risikofaktoren mit PTX-3 im 1. Trimenon	40
4.5	Auswertung der Gruppe der SGA-Kinder und PE-Schwangerschaften	41
5	DISKUSSION.....	45
5.1	Studienpopulation.....	45
5.2	Screening anhand der Dopplerbefunde.....	46
5.2.1	1.Trimenon.....	46
5.2.2	2. und 3. Trimenon.....	47
5.3	PTX-3	47
5.3.1	Normalwerte mit Perzentilenverteilung	48

5.3.2	Prädiktiver Wert des PTX-3.....	49
5.4	Ausblick für Forschung und Klinik.....	50
6	ZUSAMMENFASSUNG	52
7	ANHANG.....	54
7.1	Literaturverzeichnis	54
7.2	Abbildungsverzeichnis.....	61
7.3	Tabellenverzeichnis.....	62
7.4	Case Report Form (CRF)	63
7.5	Einverständniserklärung	90
7.6	Danksagung	97
7.7	Eidesstattliche Erklärung	98

Abkürzungsverzeichnis

A./Ae.	A rteria/ A rteriae
ADAM 12	D isintegrin- und M etalloproteinase 12
ASS	A cetyl s alicylsäure
BMI	B ody- M ass- I ndex
CRF	C ase R eport F orm
CRP	C -reaktives P rotein
DEGUM	D eutsche G esellschaft für U ltraschall in der M edizin
EDTA	E thylendiamintetraacetat
ELISA	E nzyme L inked I mmunosorbent A ssay
FGF-2	F ibroblast- G rowth- F actor- 2
HELLP	H aemolysis, e levated liver enzymes, l ow p latelets-Syndrom
HIV	H umanes I mmundefizienz V irus
IgG	I mmunglobulin G
IL-6	I nterleukin- 6
IUGR	I ntrauterine g rowth restriction
MAP	M ean A rterial P ressure (Mittlerer arterieller Blutdruck)
mmHg	M illimeter Quecksilbersäule
MMP-9	M atrix- M etalloproteinase- 9
NP-1 und 2	N euronal- P entraxin 1 und 2
NPR	N euronal- P entraxin- R ezeptor
PAPP-A	p regnancy-associated P lasmaprotein- A
PE	P räeklampsie
PI	P ulsatility- I ndex
PIGF	P lacental G rowth F actor
PP-13	P lazentaprotein- 13
PRR	P attern- R ecognition- R eceptor

PTX-3	P entraxin- 3
rpm	rounds p er m inute
RR	R elatives R isiko
SAP	S erum- A myloid- P rotein
sFlt-1	s oluble f ms-like tyrosine kinase- 1
SGA	S mall for g estational a ge
SSW	S chwangerschafts w oche
TNF α	T umor- N ekrose- F aktor α
TNF-R1	T umor- N ekrose- F aktor- R ezeptor- 1
VEGF	V ascular E ndothelial G rowth F actor
Z.n.	Z ustand n ach

1 EINLEITUNG

Im Erstrimenonscreening nehmen Bestrebungen zu, Screeningverfahren zu etablieren. Damit möchte man Schwangere mit einem erhöhten Risiko für spätere Komplikationen wie Präeklampsie oder Frühgeburtlichkeit bereits zu diesem frühen Schwangerschaftszeitpunkt diagnostizieren. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollte der Stellenwert einer Ultraschall-doppleruntersuchung in der Frühschwangerschaft im Zusammenhang mit der laborchemischen Untersuchung der Pentraxinwerte für die Prädiktion der Präeklampsie analysiert werden. Möglicherweise könnte damit das Risiko für das spätere Auftreten einer Präeklampsie in der Frühschwangerschaft eingeschätzt und therapeutisch besser und früher interveniert werden.

1.1 Präeklampsie

Die Präeklampsie ist ein komplexes, schwangerschaftsspezifisches Syndrom, das schwere mütterliche und fetale Risiken nach sich ziehen kann. Sie ist für jeden dritten Fall schwerer geburtshilflicher Morbidität, für fünffach gesteigerte perinatale Mortalität und weltweit für mindestens 50 000 mütterliche Todesfälle pro Jahr verantwortlich [(Roberts 1998); (Duley 1992); (Waterstone M 2001)].

1.1.1 Definition

Klinisch manifestieren sich die Kardinalsymptome Hypertonie über 140/90mmHg und Proteinurie über 300mg/24h (oder ein mindestens einfach positiven Teststreifen) erstmals nach der 20. Schwangerschaftswoche (SSW) (Rath W 2010). Bei Fehlen der Proteinurie lässt sich die Diagnose auch stellen, wenn erstmals eine fetale Wachstumsretardierung, eine Beteiligung der Leber, Nierenfunktionsstörungen, neurologische oder hämatologische Probleme beobachtet werden (Brown 2001).

Man spricht von einer schweren Präeklampsie, wenn zusätzlich mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt wird (Brown 2001):

- Nierenfunktionseinschränkung (Kreatinin $\geq 0,9$ g/l oder Oligurie $< 500\text{ml}/24\text{h}$)
- Leberbeteiligung (Transaminasenanstieg, schwere Oberbauchschmerzen)
- Lungenödem oder Zyanose
- Hämatologische Komplikationen (Thrombozytopenie, Hämolyse)
- Neurologische Symptome (schwere Kopfschmerzen, Sehstörungen)
- Fetale Wachstumsrestriktion
- Blutdruck $\geq 170/90\text{mmHg}$
- Proteinurie $\geq 5\text{g}/24\text{h}$

Die beiden lebensbedrohlichsten mütterlichen Komplikationen sind die Eklampsie und das HELLP-Syndrom, die intensivmedizinische Betreuung für die Patientin erforderlich machen. Bei der Eklampsie treten im Rahmen der Präeklampsie zusätzlich tonisch-klonische Krampfanfälle auf, die keiner anderen Ursache zugeordnet werden können. Allerdings gehen die Anfälle nur in 50% mit einer schweren Hypertonie einher und treten selbst bei fehlender Hypertonie oder Proteinurie ein (in 14-34% der Fälle) [(Douglas KA 1994); (Mattar F 2000)]. Die Diagnose des HELLP-Syndroms wird laborchemisch gestellt durch die Kombination aus Hämolyse (erniedrigtes Haptoglobin), pathologisch erhöhte Leberenzyme und erniedrigte Leukozytenzahlen ($<100000/\mu\text{l}$) (Weinstein 1982). Gleichzeitig weisen 90% der Patientinnen als klinisches Leitsymptom epigastrische Schmerzen, 80% erhöhte Blutdruckwerte und 85-90% eine Proteinurie auf (Rath, et al. 1995). Bei 15% der Patientinnen treten allerdings weder Proteinurie noch Hypertonie auf.

Fetale Risiken bestehen in der Wachstumsretardierung und der damit verbundenen frühzeitigen Beendigung der Schwangerschaft bei vitaler kindlicher Bedrohung. Bei vorzeitiger Plazentalösung kann es zu fetaler Hypoxie, intrauterinem Fruchttod bzw. neonatalen Todesfällen kommen.

1.1.2 Ursachen und Risikofaktoren

Die Pathogenese der Erkrankung ist bis heute nicht gänzlich geklärt. Man geht von einem multifaktoriellen Geschehen aus, bei dem anamnestische, genetische und schwangerschaftsassozierte Faktoren eine Rolle spielen (Duckitt 2005).

Zu den anamnestische Risikofaktoren zählt man neben Alter > 40 Jahren, Erstparität, familiärer Belastung, vorbestehendem Diabetes mellitus, Hypertonie, Nierenerkrankungen und massivem Übergewicht (BMI >35kg/m²) vor allem eine vorangegangene Präeklampsie oder eine Autoimmunerkrankung wie z.B. das Antiphospholipid-Syndrom (Dekker G 2001) (siehe Tabelle 1). Als Ausdruck einer immunologischen Inkompatibilität zwischen mütterlichem und fetalem Gewebe konnte zum Beispiel bei Erstlings-, Mehrlings- oder Erstschwangerschaften mit einem neuen Partner eine erhöhte Inzidenz an Präeklampsien beobachtet werden (Li 2000).

1.1.3 Pathophysiologie

Physiologischerweise werden die Spiralarterien während der Implantation durch die Trophoblasten eröffnet. Diese wachsen in die Media der Gefäße ein und bewirken einen Elastizitätsverlust der glatten Muskulatur. Durch diese Umbauvorgänge kommt es zu einer trichterförmigen Erweiterung der Spiralarterien, was zur Anpassung des mütterlichen Kreislaufs auf den vermehrten Blutfluss in der Schwangerschaft führt (Brosens IA 1967). Dies zeigt sich im Doppler der Ae. uterinae in abnehmenden Widerstandsindizes und im Verschwinden des frühdiastolischen Notches. Pathophysiologisch ist die Ursache vor allem in einer fehlerhaften Plazentation und mangelnder Trophoblastinvasion in die Spiralarterien zu sehen. In der Folge bleibt die erwünschte Gefäßdilatation aus, die zu einer Widerstandserniedrigung in der Plazenta führt (Pijnenborg 1991). Daraus ergibt sich durch den erhöhten Widerstand eine verminderte Sauerstoffversorgung an der fetoplazentaren Einheit, die über eine endotheliale Dysfunktion eine immunologische Reaktion hervorruft. Dies führt zu einer Freisetzung von Sauerstoffradikalen, proinflammatorischen Zytokinen (wie IL-6 und TNF α) und gefäßschädigenden Substanzen (z.B. Triglyceridsäuren, freie Fettsäuren und Cholesterin) [(Endresen 1992), (Redman 1999)]. Auch Pentraxin-3 wird als Teil der angeborenen Immunantwort durch diese endotheliale Dysfunktion

freigesetzt (siehe Kapitel 1.2.4). Als weiteren wichtigen Faktor zur Entstehung dieser endothelialen Dysfunktion sieht man das Ungleichgewicht zwischen angiogenen Faktoren wie PlGF oder VEGF und anti-angiogenen Faktoren wie sFlt-1 (Levine und Karumanchi 2005).

Dopplersonographisch findet man weiterhin erhöhte Widerstandsindizes und persistierende frühdiastolische Inzisuren (Notches).

1.1.4 Diagnostik und Prävention

Da ein sicherer Screeningtest zur Präeklampsie-Früherkennung bislang nicht zur Verfügung steht, kann das individuelle Risiko einer bestehenden Schwangerschaft durch die Kombination von Ultraschall-doppleruntersuchungen an der A. uterina und den anamnestischen Risikofaktoren abgeschätzt werden (Conde-Agudelo 2004). Aktuelle Studien zu einem kombinierten Screeningverfahren zeigten verschiedene biochemische Parameter (PAPP-A, PP-13, ADAM 12, Activin A, Inhibin A), die in Kombination mit einer Doppleruntersuchung der Ae. uterinae zu einer Sensitivität von 60-80% und einer Spezifität von >80% führten (Giguère Y 2010). Das Pentraxin-3 scheint als möglicher Marker unabhängig von Dopplerbefunden der Ae. uterinae zu sein (Baschat AA 2009). Bei einem im 2. Trimenon durchgeführten bilateral pathologischen Dopplersonogramm (z.B. mit unübersehbaren beidseitigen Notches) ist im weiteren Schwangerschaftsverlauf in 60% mit dem Entstehen einer Präeklampsie zu rechnen (Yu CKH 2005). Je früher jedoch eine mögliche Schwangerschaftskomplikation ausgeschlossen oder nachgewiesen werden kann, desto größer ist der prädiktive Wert. Aktuelle Studien belegen, dass auch im Rahmen des Ersttrimenonscreening ermittelte abnorme Dopplersonogramme mit der Entwicklung einer Präeklampsie in Verbindung gebracht werden können (Poon L 2009).

Das individuelle Risiko einer Schwangeren kann unter Berücksichtigung ihrer anamnestischen klinischen Angaben gemäß Tabelle 1 noch genauer abgeschätzt werden. Bestehen mehrere Risikofaktoren, so werden sie im Hinblick auf das relative Risiko kombiniert betrachtet.

Die aktuelle Studienlage zur Primärprävention sieht als einzige Möglichkeit, von der insbesondere Frauen mit schwerer Präeklampsie in der Anamnese profitieren die möglichst frühzeitig (vor der 16. SSW) begonnene niedrig dosierte Gabe von Acetylsalicylsäure (75-150mg/Tag) [(CLASP 1994); (Vainio M 2002) (Bujold, et al. 2010)]. Unter ASS-Gabe verringert sich die Präeklampsieprävalenz um 50%. Weiterhin konnte eine Reduktion schwerer Präeklampsieformen, schwangerschaftsbedingter Hypertonien und vorzeitiger Entbindungen nachgewiesen werden (Bujold, et al. 2010). Der Therapie mit anderen antioxidativen Substanzen wie Vitamin C und E konnte bisher kein protektiver Wert nachgewiesen werden [(Poston L 2006); (Rumbold AR 2006)].

Anamnestiche Risikofaktoren (RR: relatives Risiko für Präeklampsie) (Dekker G 2001)	Relatives Risiko (RR)
0	
Antiphospholipid-Syndrom	RR ~ 9
Z.n. Präeklampsie	RR ~ 7
Body Mass Index > 35	RR ~ 4
Vorbestehender Diabetes mellitus	RR ~ 3,5
Familiäre Belastung	RR ~ 3
Vorbestehende Nierenerkrankung (Murakami S 2000)	RR ~ 3
Erstparität	RR ~ 2,5
Alter > 40Jahre	RR ~2
Chronische Hypertonie	Risiko ↑
Autoimmunerkrankungen z.B. systemischer Lupus erythematodes mit Nephritis (Julkunen 1998)	Risiko ↑↑
Thrombophilie [(Lachmeijer AM 2002); (Alfirevic Z 2002)]	Datenlage unklar

Tabelle 1: Risikoabschätzung anhand mütterlicher anamnestischer Daten

1.2 Pentraxin

1.2.1 Struktur

Die Familie der Pentraxine ist charakterisiert durch eine 200 Aminosäuren lange Pentraxin-Domäne am Carboxylende der Proteine und erhält ihren Namen aufgrund der pentamerischen Molekularstruktur. Aufgrund ihrer Primärstruktur werden sie in kurze und lange Pentraxine unterschieden. Das C-reaktive Protein (CRP) war das erste, in den 1930er Jahren beschriebene Pentraxin, das als Prototyp der Akute-Phase-Proteine im menschlichen Serum identifiziert wurde (Gewurz H 1995) (siehe Abbildung 1).

Zu den kurzen Pentraxinen zählt außer dem CRP das Serum-Amyloid-Protein (SAP). Beide werden hauptsächlich als Antwort auf entzündliche Reize, vor allem IL-6 vermittelt in der Leber produziert und gelten als Akute-Phase-Proteine, die eine systemische Immunantwort repräsentieren.

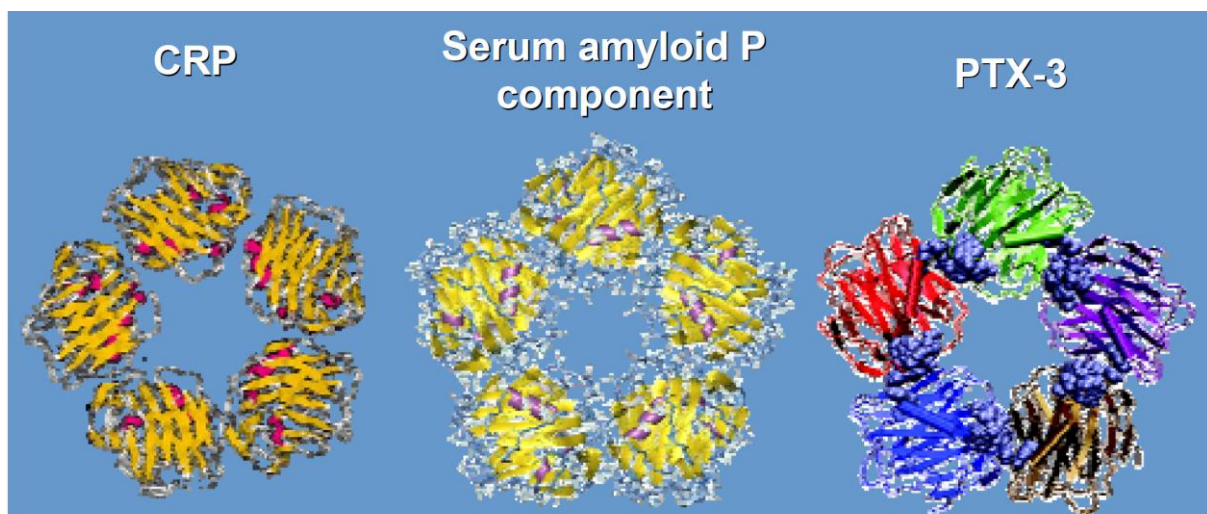


Abbildung 1: Typische fünfeckige Molekülstruktur der Pentraxine (Hrabac 2008)

Die langen Pentraxine heißen PTX-3, PTX-4, NP-1, NP-2 und NPR. Sie werden von verschiedenen Zellen produziert wie z.B. Endothelzellen, Monozyten, Makrophagen und Fibroblasten (Paramita 2006). Damit erfolgt ihre Immunantwort lokal im geschädigten Gewebe (siehe Abbildung 2 und Abbildung 3).

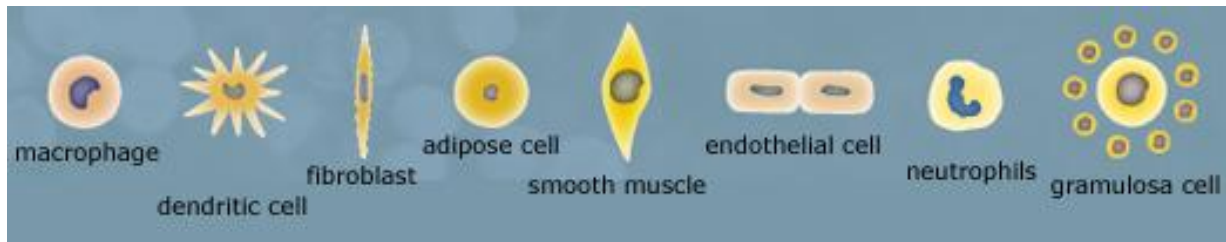


Abbildung 2: Pentraxin-3 produzierende Zellen (Garlanda C 2005)

PTX-3 ist ein 45kD schweres Protein, das aus hochmolekularen Multimeren zusammengesetzt ist, die untereinander durch Disulfidbrücken verbunden sind. Das C-terminale Ende (203 Aminosäuren) des PTX-3 teilt Gemeinsamkeiten mit den anderen kurzen Pentraxinen, wohingegen das N-terminale Ende (178 Aminosäuren) keine signifikanten Homologien mit anderen bekannten Proteinen hat. PTX-3 unterscheidet sich vom CRP und SAP weiterhin im genetischen Aufbau, dem zellulären Vorkommen und seinen Ligandenbindungseigenschaften (Garlanda C 2005).

1.2.2 Funktionen

PTX-3 ist ein löslicher Rezeptor und spielt eine komplexe Rolle in der angeborenen Immunabwehr, indem er ein breites Spektrum an Antigenen erkennt, Komplementaktivität moduliert und die Antigenerkennung von Makrophagen und dendritischen Zellen erleichtert (Bottazzi B 2006). Er gehört zur Gruppe der Pattern-Recognition-Receptors (PRR) und bindet in der gelösten Form an das passende Antigen, das damit als „fremd“ markiert wird (sogenannte Opsonierung). Dadurch aktiviert er unter anderem die erste Komponente des klassischen Komplementsystems (C1q), was schließlich zur Phagozytose durch Granulozyten und Makrophagen führt. Interagiert PTX-3 jedoch mit oberflächengebundenem C1q wird die Komplementkaskade inhibiert. Weiterhin trägt PTX-3 dazu bei, absterbende körpereigene Zellen oder Zellbestandteile zu erkennen und zu beseitigen, z.B. beim programmierten Zelltod, der sogenannten Apoptose (Paramita 2006). PTX-3 kann mit einer Vielzahl von Pathogenen interagieren, darunter verschiedene grampositive und gramnegative Bakterien, ebenso wie Viren und Pilze.

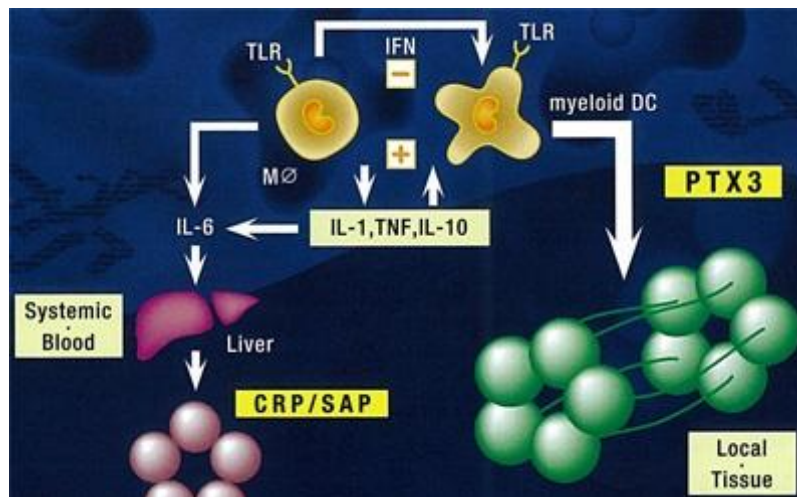


Abbildung 3: Rolle der Pentraxine in der angeborenen Immunabwehr (modifiziert nach Garlanda C 2005)

In der Angiogenese hemmt PTX-3 die Bindung von FGF-2 (Fibroblast-Growth-Factor-2) an Endothelzellen und hindert so die FGF-abhängige Zellproliferation (z.B. glatte Muskelzellen der Gefäßwände). FGF-2 spielt eine wichtige Rolle in der Gefäßneubildung während der Wundheilung, in entzündlichen Geschehen, in der Atherosklerose und im Tumorwachstum (Camoszi M 2005).

1.2.3 Pathophysiologisches Vorkommen

Die Normwerte für PTX-3 liegen beim Menschen < 2ng/ml. Sie können als Akute-Phase-Proteine rasch (Gipfel nach 6-8h) und dramatisch auf 200-800ng/ml ansteigen, z.B. beim toxischen Schock, der Sepsis oder unter anderen infektiösen oder entzündlichen Bedingungen (Muller B 2001). Charakteristisch ist dabei der rapide Anstieg der PTX-3-Blutwerte verglichen mit anderen Akute-Phase-Proteinen wie dem CRP. Dabei besteht scheinbar eine Korrelation zwischen der Höhe der Blutwerte und der Schwere der Erkrankung, so dass dem PTX-3 ein prognostischer Wert beigemessen wird (Peri G 2000).

Weiterhin wurden beim akuten Myokardinfarkt erhöhte PTX-3-Werte gemessen, die ihren Gipfel etwa 7 Stunden nach Auftreten der Symptome erreichten. Auch bei der instabilen Angina pectoris waren die Werte dreifach erhöht (Latini R 2004). Der frühe

und rasche Anstieg und die Eigenschaft, als prognostischer Marker zu fungieren weisen einige Vorteile gegenüber den etablierten Markern (z.B. CRP) auf.

Erhöhte PTX-3-Werte wurden ferner bei einigen Autoimmunerkrankungen wie der kleinzelligen Vaskulitis oder der rheumatoiden Arthritis nachgewiesen (Fazzini F 2001). Auch Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen wiesen erhöhte Werte auf (Tong M 2007). Hier scheint PTX-3 ebenso als prädiktiver Marker ein möglicher Parameter zur Verlaufskontrolle der Krankheit.

PTX-3-Mangel wird mit einem schweren Defekt der weiblichen Fertilität in Verbindung gebracht (Salustri A 2004). Es bildet sich ein abnormer Cumulus oophorus mit einer instabilen extrazellulären Matrix. Das weist darauf hin, dass PTX-3 ein Bestandteil der extrazellulären Matrix ist und die Implantation und Dezidualisation fördert.

1.2.4 PTX-3 in der Schwangerschaft

In der Schwangerschaft sind die Blutwerte von PTX-3 im Vergleich zur nichtschwangeren Frau leicht erhöht, da die Implantation des Embryos eine relevante immunologische Reaktion hervorruft (Redman 1999). Höhere PTX-3-Konzentrationen wurden bei Schwangeren mit Präeklampsie beobachtet [(Papageorgiou AT 2007); (Cetin I 2006); (Rovere-Querini P 2006)], was die endotheliale Dysfunktion zum Ausdruck bringt, die Teil einer exzessiven mütterlichen Immunantwort auf die Schwangerschaft darstellt. PTX-3 wurde auch mittels Immunhistochemie im placentaren Gewebe gefunden (Rovere-Querini P 2006), nämlich im Amnionepithel, im Chorionmesoderm, in Trophoblasten und im perivaskulären Stroma. In Plazenten von Patientinnen mit Präeklampsie fanden sich Zonen mit deutlich erhöhten PTX-3-Konzentrationen, Infarke und fibrinoide Bereiche. In diesem Kontext wird vermutet, dass eine fehlerhafte Immunantwort auf Apoptose und Umbauvorgänge in der sich entwickelnden Plazenta im Zusammenhang mit der Präeklampsie stehen.

2 ZIELE UND FRAGESTELLUNGEN der vorliegenden Arbeit

Präeklampsie stellt eine häufige Erkrankung der Schwangerschaft dar, die für Mutter und Kind schwerwiegenden Folgen haben kann.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich im Rahmen der multizentrischen, prospektiven Studie „Pentraxin 3: Discriminative and qualitative biomarker of endothelial dysfunction in normal pregnancy and women destined to develop preeclampsia“ mit maternalen anamnestischen, klinischen und laborchemischen Parametern. Die intrauterinen fetalen und postnatalen kindlichen Parameter sollten ebenfalls erfasst werden, um die kindliche Entwicklung und ihr „outcome“ unter der Schwangerschaftserkrankung zu dokumentieren.

Dabei sollten die Pentraxin-3-Konzentrationen im Verlauf der normalen Schwangerschaft dargestellt werden und mit denen der Präeklampsie verglichen werden. PTX-3 Normwerte von gesunden Schwangeren sollten erarbeitet werden, da nach unseren Kenntnissen bislang keine Normwerte für gesunde Schwangere existieren. Weiterhin sollte untersucht werden, inwiefern PTX-3 in unserem Studienkollektiv als Früherkennungsmarker bestätigt werden kann.

Desweiteren wurden die Befunde der Dopplersonogramme der Ae. Uterinae analysiert und sequentiell dargestellt.

Über den Einfluss von PTX-3 in der Entstehung von Präeklampsie wurden bereits einige Studien publiziert, deren Ergebnisse teils widersprüchlich sind. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, inwiefern die gewonnenen Erkenntnisse in diesen Kontext aktueller Studie einzuordnen sind.

3 METHODIK

3.1 Studiendesign

Die vorliegende Arbeit bezieht ihre Daten aus der pränatalmedizinischen Ambulanz der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Salzburger Landeskliniken, die im Rahmen der multizentrischen, prospektiven, klinischen Kohorten-Studie: „Pentraxin 3: Discriminative and qualitative biomarker of endothelial dysfunction in normal pregnancy and women destined to develop preeclampsia“ gewonnen wurden. Das Ziel der Gesamtstudie war es, erhöhte PTX-3-Plasma-Konzentrationen bereits vor Auftreten von Präeklampsie zu erfassen, eine mögliche Korrelation mit anderen anamnestischen, klinischen und Ultraschalluntersuchungsbefunden zu erfassen und somit PTX-3 als möglichen Früherkennungsmarker zu etablieren (siehe Tabelle 2). Dazu wurden die Patientinnen meist in der 11.- 14.-SSW in die Studie aufgenommen und prospektiv bis zum Zeitpunkt der Entbindung (oder im Falle einer Präeklampsie darüber hinaus) beobachtet. Bei Aufnahme in die Studie (11.–14. SSW) , im 2. Trimenon der Schwangerschaft (18.-22. SSW) und im 3. Trimenon (34.–36. SSW) wurde jeweils eine Kontrolluntersuchung durchgeführt, das heißt, die minimale Verweildauer in der Studie beträgt ca. 27 Wochen, die maximale ca. 44 Wochen.

3.2 Patientinnen

Bei den untersuchten Patientinnen handelt es sich um 285 Frauen, die sich einer Untersuchung in der Pränatalambulanz der Salzburger Landeskliniken zur Überwachung ihrer Schwangerschaft unterzogen haben. Es handelt sich hierbei um ein unselektioniertes, gemischtes Kollektiv, das heißt einem Screening- und Zuweisungskollektiv mit erhöhtem Risiko. Indikationen für eine Zuweisung niedergelassener Fachärzte waren hierbei neben Auffälligkeiten oder kontrollbedürftigen Befunden in MutterKindPass-Untersuchungen vor allem anamnestische Risiken:

- Schwangere, die bei Geburt des Kindes über 35 Jahre alt sind
- Chromosomenanomalien in früheren Schwangerschaften

- Strukturelle Anomalien oder kindliche Erkrankungen in früheren Schwangerschaften
- Genetische Indikation
- Potentiell teratogene Noxen während der Schwangerschaft

3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie aufgenommen wurden gesunde schwangere Frauen im Alter von 18 bis 45 Jahren, die über das Studienprocedere aufgeklärt wurden und die Einverständniserklärung (informed consent) unterschrieben hatten.

Als prinzipielle Ausschlusskriterien wurden im Studienprotokoll folgende Faktoren vereinbart, da sie sich falsch-positiv auf die Studienergebnisse auswirken könnten:

- Präeklampsie oder Eklampsie in vorangegangenen Schwangerschaften
- Behandelte Atherosklerose
- Behandelte Hypertension
- Diabetes mellitus
- Mentales Unvermögen, dem Studienprotokoll zu folgen
- Maligne Erkrankungen
- Drogenabhängigkeit
- Alkoholismus
- Bekannte HIV-Infektion
- Mehrlingsschwangerschaften
- Vorangegangene Operationen am Uterus (unter Ausnahme von Sectiones)
- Fetale Aneuploidie
- Fetale Anomalien und Missbildungen
- Maternale Autoimmunerkrankungen
- Hämolytisch-urämisches Syndrom
- Akute Fettleber
- Epilepsie

3.2.2 Aufnahmeuntersuchung

Die Aufnahme der Schwangeren in die Studie (inclusion) erfolgte in der 11.–14. SSW nach schriftlicher Unterzeichnung der Einverständniserklärung (informed consent). Dabei wurden demographische Daten wie Alter, Größe, Gewicht und Herkunft erfragt. In einer detaillierten Anamnese wurden Angaben zu Rauchen und Alkohol, chronischen Begleiterkrankungen, Dauermedikation, Anzahl und Outcome vorheriger Schwangerschaften und Blutungen in der aktuellen Schwangerschaft dokumentiert. Klinisch untersucht wurden die Vitalzeichen Blutdruck und Puls. Im Ultraschall wurden neben dem Gestationsalter fetale Parameter (Scheitel-Steiß-Länge, Biparietaler Durchmesser), fetale Missbildungen und Anomalien der Plazenta beurteilt. Im Dopplerultraschall der Ae. uterinae wurde der Pulsatilitätsindex PI und das Vorhandensein von Notches gemessen. An laborchemischen Befunden wurde neben der Bestimmung der Plasmakonzentrationen von PTX-3 ein Urin-Test (Dip-Stick) zum Ausschluss einer Proteinurie durchgeführt (siehe Tabelle 2)

3.2.3 Studienkontrollen

Nach dem Studienprotokoll (siehe Tabelle 2) wurden zwei Studien-Kontrolltermine mit den Patientinnen vereinbart, nämlich im zweiten (18.–22. SSW) und im dritten (34.–36. SSW) Trimenon. Ein zusätzlicher Termin zwischen der 26. und 28. SSW wurde nur bei klinischen Auffälligkeiten erforderlich. Bei diesen Studienkontrollen wurden Details zum Verlauf der Schwangerschaft (Blutungen, neu aufgetretene Begleiterkrankungen, Änderung in der Medikation, Gewichtszunahme) erfragt. Jeder Termin umfasste eine sonographische Untersuchung, die eine Kontrolle der altersentsprechenden kindlichen Entwicklung und der Plazenta beinhaltete. Im Dopplerultraschall wurden erneut die Widerstandsindizes gemessen. Desweiteren wurde wieder jeweils eine Urin- und Blutprobe erbeten, um die laborchemischen Befunde PTX-3-Plasmakonzentration und eine mögliche Proteinurie im Urindipstick zu analysieren.

Innerhalb der ersten Woche nach der Entbindung wurde den Patientinnen die letzte Blutprobe zur Bestimmung von PTX-3 entnommen. Im Falle, dass die Patientin im Verlauf der Schwangerschaft eine Präeklampsie entwickelt hat, wurde sie innerhalb

von 12 Wochen nach der Entbindung nachuntersucht, wobei neben den Vitalparametern eine PTX-3-Kontrolle stattfand.

Schwangerschafts- verlauf	Untersuchungen nach Studienprotokoll
11.-14. SSW	Studienaufnahme mit Einwilligung, detaillierter Anamnese, körperlicher Untersuchung, Ultraschall und Blutentnahme
18.-22. SSW	Studienkontrolle mit klinischer Untersuchung, Ultraschall und Blutentnahme
26.-28. SSW	optionale Studienkontrolle mit klinischer Untersuchung, Ultraschall und Blutentnahme nur bei klinischen Auffälligkeiten
34.-36. SSW	Studienkontrolle mit klinischer Untersuchung, Ultraschall und Blutentnahme
Geburt	Blutentnahme
12. Woche post partum	Blutentnahme und klinische Nachkontrolle nur bei Auftreten einer Präeklampsie

Tabelle 2: Studienprotokoll

3.3 Datenerfassung

Die erhobenen Befunde und biometrischen Daten wurden über das Schwangerenvorsorge- und Geburtenerfassungssystem PIA Fetal Database® der FA ViewPoint (ViewPoint Bildverarbeitung GmbH, Angelsrieder Feld 12, D-82234 Weßling) dokumentiert. Anamnestische Informationen wurden zum Teil aus Arztbriefen, Mutter-Kind-Pässen und Krankenblättern entnommen. Die so

gewonnenen Informationen wurden in die sogenannte Case Report Forms (CRF) übertragen und daraus ausgewertet (siehe CRF im Anhang unter 7.4).

3.3.1 Einverständnis

Alle in die Studie aufgenommenen Patientinnen wurden im Rahmen eines Aufklärungsgespräches ausführlich über die Details der Studie und die geplanten Untersuchungen informiert. Jeder Patientin wurde schriftliches Informationsmaterial ausgehändigt. Das Einverständnis der Patientinnen an der Teilnahme wurde schriftlich gegeben (siehe Einverständniserklärung/informed consent im Anhang unter 7.5).

3.3.2 Datenschutz

Jeder Studienteilnehmerin wurde eine Identifizierungsnummer zugeordnet. Die Daten wurden nur in anonymisierter Form an die Studienleitung weitergegeben.

Die Studie wird in Übereinstimmung mit der „Deklaration von Helsinki“ durchgeführt und von der Salzburger Landesethikkommission als unbedenklich genehmigt.

3.4 Untersuchungsverfahren

3.4.1 Ultraschall und Dopplerultraschall der Ae. uterinae

Die Ultraschalluntersuchungen erfolgten in Rückenlage bei leicht erhöhtem Oberkörper. In den meisten Fällen wurde von transabdominal geschallt, nur bei unklaren Bildern wurde der transvaginale Schall bevorzugt. Die Untersuchungen führten erfahrene Assistenz- und Oberärzte (DEGUM II) der Universitätsklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Salzburger Landeskliniken auf folgenden Ultraschallgeräten durch: Logiq 9, Voluson 730 und E8 der Firma GE Healthcare Deutschland (Oskar-Schlemmer-Str.11, D-80807 München). Verwendet wurden die für die geburtshilfliche Ultraschalldiagnostik üblichen Multifrequenz-Schallköpfe.

Folgende Ultraschall-Parameter wurden in der Studie berücksichtigt:

- Scheitel-Steiß-Länge
- Reifegrad der Plazenta

In den meisten Fällen wurde bei Aufnahme in die Studie eine Nackenfaltenmessung durchgeführt, um das Risiko chromosomaler Missbildungen abzuschätzen. Im weiteren Verlauf der Schwangerschaft wurde bei jeder Untersuchung eine fetale Biometrie erstellt, um eine altersentsprechende Entwicklung zu beurteilen.

Die Ermittlung der Dopplermesswerte erfolgte farbkodiert geleitet im Pulsed-Wave-Modus. Beurteilt wurden der Pulsatility-Index (PI) und das Vorhandensein von Notches für die Ae. uterinae beidseits.

Im ersten Trimenon wurde dabei der innere Muttermund im Sagittalschnitt aufgesucht und der Ultraschallkopf langsam zur Seite geschwenkt, um die seitlich an der Cervix entlang ziehenden Ae. uterinae mittels Farbdoppler aufzufinden und gepulsten Doppler abzugreifen (siehe Abbildung 4). Die A. uterina stellt sich dabei durch ihre hohe Flussgeschwindigkeit eindeutig dar (Ostermayer 2008).

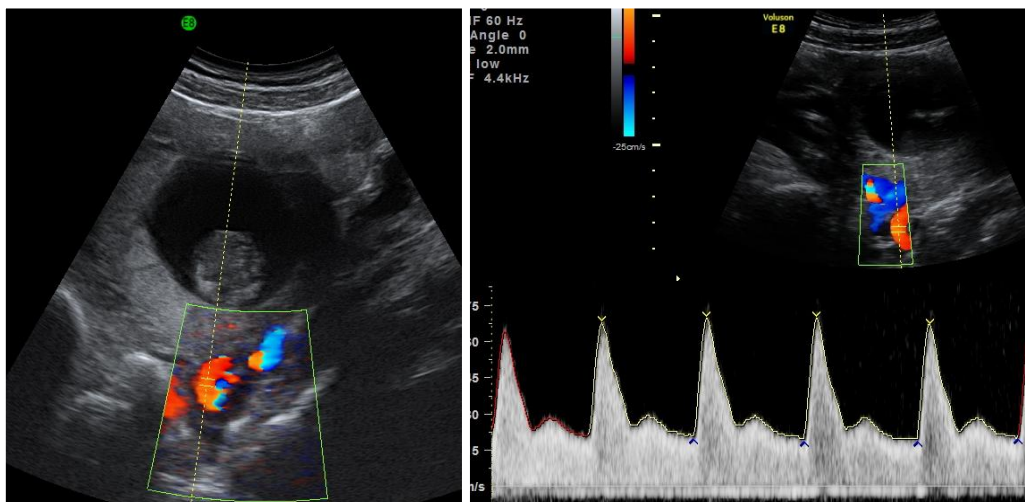


Abbildung 4: normales Dopplersonogramm der A. uterina im ersten Trimenon

Die Darstellung im 2. und 3. Trimenon erfolgt, indem man den Schallkopf in der Inguinalregion parallel zur Längsachse der Patientin ankoppelt und zunächst die großen Gefäße darstellt. Man verfolgt die A. iliaca externa vom Abgang der A. iliaca communis ca. 5cm nach kaudal und kippt den Schallkopf anschließend nach medial.

Nun sieht man die A.uterina von dorsokaudal nach ventrokranial ziehen (siehe Abbildung 5). Man positioniert nun das Dopplergate mit einem Dopplerfenster von ca. 10mm über die A.uterina. Der Schallwinkel beträgt meist 30-45° (Schaffer H. 2008).

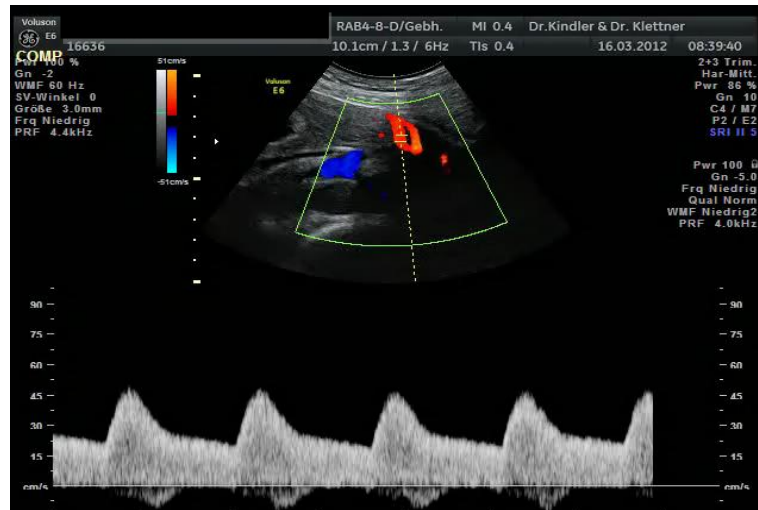


Abbildung 5: normales Dopplersonogramm der A.uterina im dritten Trimenon

Wenn drei ähnliche aufeinanderfolgende Dopplersignale abgeleitet wurden, wurde der Pulsatilitätsindex gemessen. Dabei wurde auch beurteilt, ob sich eine frühdiastolische Inzisur, sogenanntes Notching, darstellt (siehe Abbildung 6). Die Ableitungen erfolgten beidseits an der rechten und linken A. uterina.

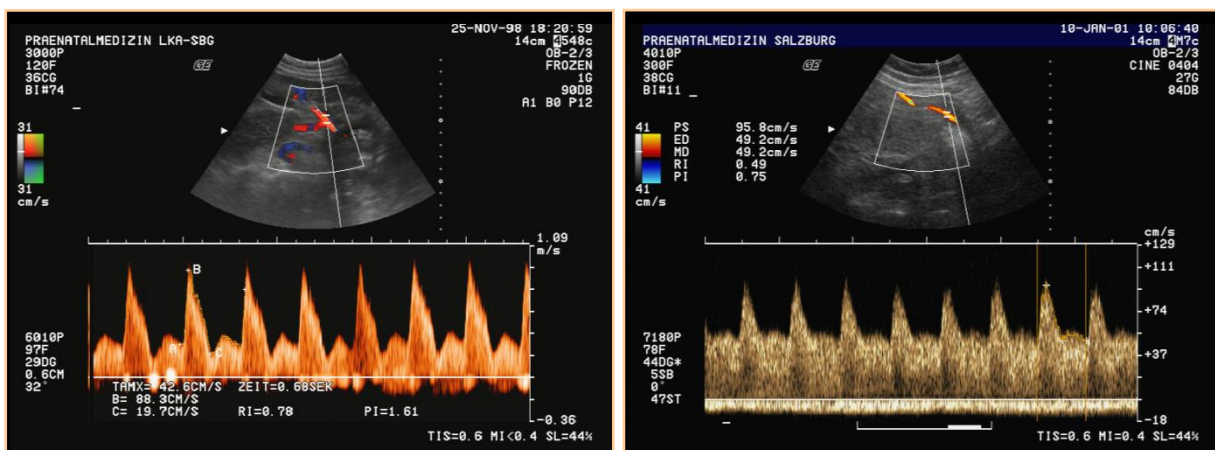


Abbildung 6: pathologisches Dopplersonogramm der A.uterina im 1. und 2. Trimenon mit Notching

Als pathologisch für den Pulsatility-Index im 1. Trimenon werden Werte oberhalb der 95. Perzentile (2,35) angesehen (Martin, et al. 2001). Für die Beurteilung des

frühdiastolischen Notching ergeben sich keine eindeutig pathologischen Werte im ersten Trimenon. Je früher im Schwangerschaftsverlauf ein Ausbleiben der Notches beobachtet werden kann, desto niedriger ist das Risiko, eine vaskulär bedingte Komplikation (PE, IUGR) zu entwickeln.

3.4.2 Urin

Bei jeder Untersuchung wurden die Patientinnen um eine Urinprobe gebeten, die dann mit Hilfe eines Urinteststreifens (Urin-Dip-Stick) auf Proteinurie untersucht wurde. Im Falle einer Proteinurie (mindestens einfach positives Ergebnis im Teststreifen) wurde anhand der Leukozytenzahlen in der Urinsedimentuntersuchung eine entzündliche Veränderung der Harnwege ausgeschlossen.

3.4.3 Maternale Untersuchung

Die Patientinnen wurden bei leichter Bekleidung ohne Schuhe gewogen, sofern sie ihr aktuelles Gewicht nicht genau angeben konnten.

Die Vitalzeichen Blutdruck und Puls wurden nach einer fünfminütigen Ruhepause bei der sitzenden Patientin gemessen.

Gaben die Patientinnen neu aufgetretene Beschwerden an, wurden in einer kurzen körperlichen Untersuchung die Befunde verifiziert und gegebenenfalls eine Therapie veranlasst.

3.5 Pentraxin-3-Messung

Die Pentraxin-3-Messung erfolgte im Plasma mittels eines Sandwich-ELISA-Tests, dem Enzywell PTX-3 der Firma DIESSE Diagnostica Senese, Monteriggioni (SI), Italien. Das Verfahren wurde mithilfe des vollautomatischen Analysegerätes BEP 2000 Advance System der Firma Siemens Healthcare Diagnostics standardisiert durchgeführt.

3.5.1 Verwendete Proben

Die Blutproben wurden den Patientinnen in liegender Position und ohne vorhergehende körperliche Anstrengung aus einer peripheren Armvene entnommen. Je Probe wurden 3 – 4ml Vollblut entnommen und in EDTA-Röhrchen abgefüllt. Anschließend wurden die Proben innerhalb einer Stunde mindestens 10 Minuten lang bei 1500xG (ungefähr 3500 rpm) zentrifugiert. Die so gewonnene Plasmaprobe wurde in drei kleinere Plastikröhrchen abgefüllt und bis zu ihrem Transport bei mindestens -20°C aufbewahrt. Ein zentrales Labor der Universität von Mailand war für die Lagerung und anschließende Auswertung der PTX-3-Plasma-Proben dieser Studie verantwortlich.

3.5.2 Testprinzip

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) bezeichnet ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, das mittels einer enzymatischen Farbreaktion eine quantitative Bestimmung der nachzuweisenden Substanz ermöglicht. Der Sandwich-ELISA verwendet zwei Antikörper, die beide spezifisch an das Antigen binden. Dazu wird die gelöste Plasmaprobe auf eine spezielle Mikrotiterplatte aufgebracht, auf deren „wells“ genannten Vertiefungen ein monoklonaler Antikörper gegen PTX-3 gebunden ist. Während der mindestens zweistündigen Inkubationszeit wird das in der Probe vorhandene Pentraxin-3 von den Antikörpern an die Platte gebunden. Danach wird die Platte gewaschen und zurück bleibt nur das am Antikörper gebundene PTX-3. Im nächsten Schritt wird Biotinidase-versetztes IgG zugegeben, das ebenso in der Probe vorhandenen PTX-3 bindet und eine weitere Stunde inkubiert. Die Platte wird erneut gewaschen und Peroxidase-konjugiertes Streptavidin zugegeben. Nach einer weiteren Inkubation von einer Stunde wird das Vorhandensein von Pentraxin-3 mithilfe des Peroxidase-Substrates bestimmt. Der erzielte Farbumschlag ist dabei proportional zur PTX-3-Menge in der Probe. Die Konzentration kann im Vergleich mit der Standardkurve berechnet werden, die der Enzywell PTX-3-Test zur Verfügung stellt.

3.6 Statistische Auswertung

Die Rohdaten wurden in eine Microsoft Excel Tabelle digitalisiert. Alle Auswertungen wurden mit STATISTICA 10.0 (Hill.T & Lewicki. P. (2011). Statistics: Methods and Applications. Stat.Soft, Tulsa OK.) durchgeführt. Es wurden einfaktorielle ANOVA mit LSD Tests als post-hoc Tests, sowie ANOVA mit Messwiederholungen und einem festen Faktor angewendet. Weiterhin wurden lineare Regressionsanalysen erstellt, sowie Whiskerplots und Scatterplots zur Veranschaulichung angefertigt. Dabei zeigt ein p-Wert $< 5\%$ einen statistisch signifikanten Zusammenhang bzw. Unterschied an.

4 ERGEBNISSE

4.1 Deskriptive Analyse der Studiendaten

Von März 2009 bis Oktober 2011 wurden in diesem Studienkollektiv insgesamt 285 schwangere Frauen in die klinische Kohorten-Studie: „Pentraxin-3: Discriminative and qualitative biomarker of endothelial dysfunction in normal pregnancy and women destined to develop preeclampsia“ aufgenommen. Sieben Patientinnen schieden aus persönlichen Gründen aus der Studie aus oder erfüllten die Studienkriterien nicht mehr. Fünf Schwangere entwickelten im Verlauf der Studie eine Präeklampsie, bei 29 geborenen Kindern zeigte sich eine Wachstumsretardierung (siehe Abbildung 7).

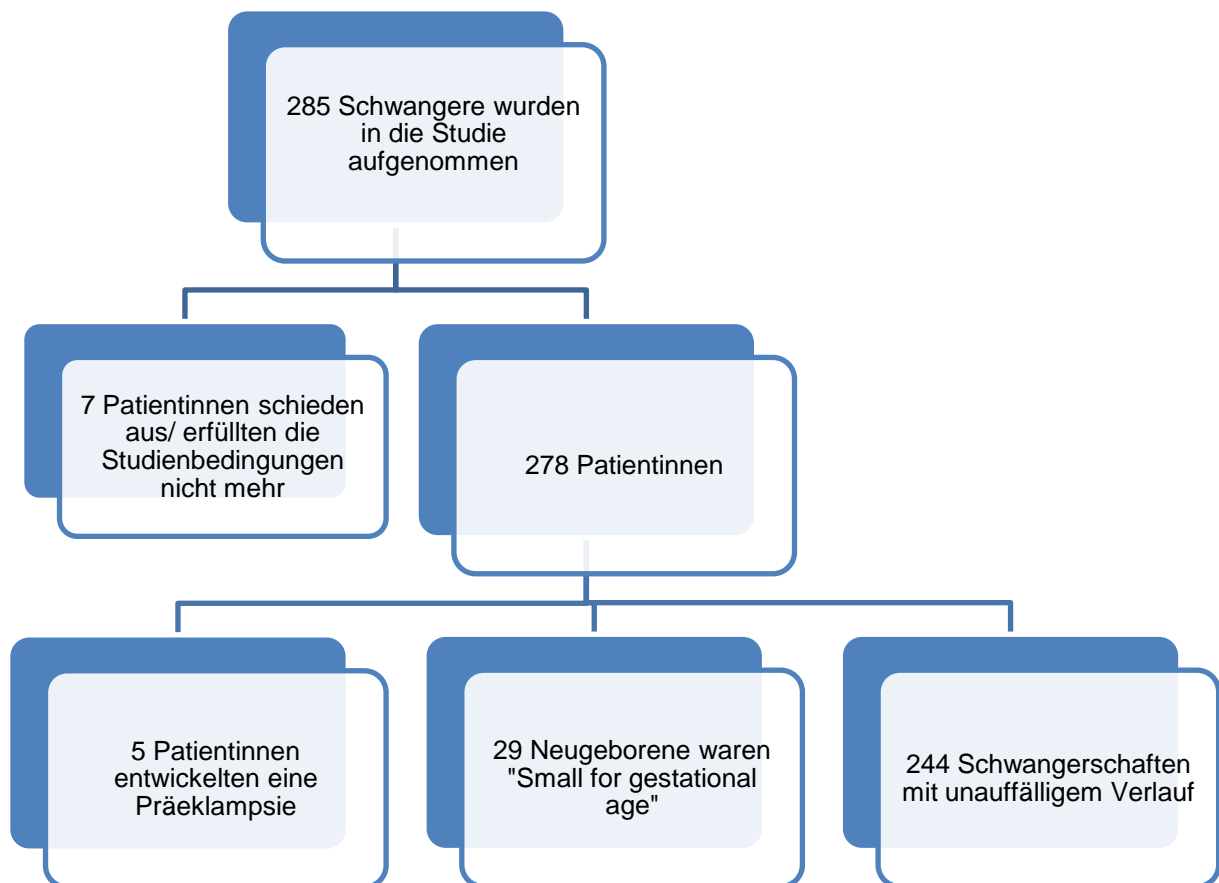


Abbildung 7: Flussdiagramm des Studienverlaufes

4.1.1 Maternale Daten

In der deskriptiven Analyse der Patientendaten zeigte sich anhand von anamnestischen und klinischen Informationen folgendes Gesamtkollektiv (siehe Tabelle 3):

Variable		Mittelwerte des Gesamtkollektivs ±Standardabweichung (min-max)
Alter		33,0 ± 0,31 (19-45)
Gravidität		2,09 ± 0,08 (1-9)
Parität		1,65 ± 0,05 (1-6)
BMI (kg/m ²)	bei Studienaufnahme	23,3 ± 0,25 (15,6-42,0)
	präpartal	27,0 ± 0,26 (19,5-41,5)

Tabelle 3: Charakterisierung des gesamten Patientenkollektivs

Das durchschnittliche Gestationsalter bei Studieneintritt betrug 12+5 SSW, im Mittel entbanden die Schwangeren mit 39+3 SSW, womit sich für die Fälle, die keine Präeklampsie entwickelten eine durchschnittliche Studienbeobachtungszeit von 26 Wochen ergibt. Die fünf Präeklampsie-Patientinnen wurden nach der Geburt innerhalb von 12 Wochen ein weiteres Mal kontrolliert.

Der Anteil der Raucherinnen vor der Schwangerschaft betrug 23,7%, davon waren 20 starke Raucherinnen (7,2%) mit einem Konsum von über 15 Zigaretten täglich. Während der Schwangerschaft rauchten 20 Schwangere (7,2%).

22 Patientinnen (7,9%) waren bei Aufnahme in die Studie 40 Jahre oder älter. In die Gruppe der Primigravida ließen sich 114 Patientinnen einordnen, das entspricht 41,0%. Bei 24 Patientinnen (8,6%) konnte man eine Adipositas mit einem BMI ≥ 30kg/m² diagnostizieren. Daraus ergibt sich ein Anteil von 50,3% der Patientinnen (140), die mindestens einen Risikofaktor für das Entstehen einer Präeklampsie aufweisen.

4.1.2 Blutdruck

Bei Aufnahme in die Studie im ersten Trimenon konnte bei sechs Frauen ein mittlerer arterieller Blutdruck (MAP: [systolischer Blutdruck + 2x diastolischer Blutdruck]/3) ≥ 100 mm Hg dokumentiert werden. Im letzten Trimenon stieg die Anzahl mit $\text{MAP} \geq 100$ mm Hg auf 31, darunter vier der fünf Patientinnen mit Präeklampsie.

Die Blutdruck- und Pulsmessungen im Schwangerschaftsverlauf sind Tabelle 4 zu entnehmen.

Zeitraum (SSW)	11-14	18-22	26-28	34-36
Systolischer Blutdruck (mmHg)	120,2 \pm 0,77 (83-163)	117,0 \pm 0,73 (89-152)	118,9 \pm 1,93 (95-150)	119,8 \pm 0,82 (91-163)
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	73,4 \pm 0,53 (50-98)	69,4 \pm 0,59 (48-98)	71,7 \pm 1,39 (35-90)	74,7 \pm 0,64 (54-120)
Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	81,2 \pm 0,51 (56-110)	85,2 \pm 0,58 (62-113)	86,9 \pm 1,24 (72-110)	89,7 \pm 0,65 (67-126)
Puls/min	79,3 \pm 0,71 (51-120)	79,8 \pm 0,78 (57-127)	83,3 \pm 1,44 (65-105)	86,8 \pm 0,89 (56-140)

Tabelle 4: Blutdruck und Puls im Verlauf (Mittelwerte mit Standardabweichung und Minimal- und Maximalwerten)

4.1.3 Entbindung

Bei einer durchschnittlichen Schwangerschaftsdauer von 39,5 Wochen wurden 275 Kinder geboren, darunter 132 männliche und 143 weibliche Neugeborene. Daraus ergibt sich eine Geschlechterverteilung von 48% zu 52%. Drei Schwangere wurden extern entbunden, hier liegen keine Daten zur Geburt vor. Das durchschnittliche Geburtsgewicht lag bei 3342g, die mittlere Geburtsgröße bei 51,0 cm (siehe Tabelle 5).

Variable	Mittelwerte des Gesamtkollektivs ±Standardabweichung (min-max)
Schwangerschaftsdauer (Wochen)	39,5 ± 0,10 (25-42)
Geburtsgewicht (g)	3342± 30,95 (725-4870)
Geburtsgröße (cm)	51,0± 0,16 (33-58)
SGA (small for gestational age)	29 (10,4%)

Tabelle 5: Morphologische Daten zur Geburt

Bei 29 Neugeborenen zeigte sich eine Wachstumsretardierung (SGA) mit einem Geburtsgewicht unterhalb der 10. Perzentile, das entspricht einem Anteil von 10,4%.

Im klinischen Verlauf wurden 192 Schwangere (69,8%) spontan entbunden, bei 25 Patientinnen (9,0%) wurde ein vaginal-operativer Eingriff notwendig, darunter 14 klassische Vakuumextraktionen und 11 Entbindungen mittels KIWI. In 21,1% der Fälle wurde eine Sectio cesarea durchgeführt (siehe Tabelle 6). Bei 55 Schwangeren (20,0%) wurde die Geburt medikamentös eingeleitet.

Geburtsmodus	n(%)
vaginal	192 (69,8%)
vaginal-operativ	25 (9,0%)
Sectio cesarea	58 (21,1%)

Tabelle 6: Geburtsmodus

4.2 Analyse der Dopplersonogramme

Zu vier möglichen Zeitpunkten wurden im Rahmen der Studie Dopplerultraschalluntersuchungen der A. uterina durchgeführt. Dabei wurden die beiden Parameter Pulsatility-Index und Notching ausgewertet. Aus den beiden PI-Messwerten der rechten und linken A. uterina wurde jeweils der Mittelwert berechnet und in der statistischen Auswertung verwendet.

4.2.1 Pulsatility-Index

Der mittlere Pulsatility-Index liegt bei 1,28 im 1. Trimenon und fällt bis auf 0,61 im Zeitraum zwischen der 34.-36. SSW. Den pathologischen Wert von 2,35 (Martin, et al. 2001) im 1. Trimenon überschreiten 32 Messungen, der maximal gemessene Wert liegt bei 3,54 (siehe Tabelle 7 und Abbildung 8). Die 95. Perzentile liegt im ersten Trimenon bei 2,12. Dabei konnte kein Unterschied zwischen Messungen in der vollendeten 11., 12. oder 13. SSW nachgewiesen werden ($P = 0,2$). Im weiteren Verlauf liegt die 95. Perzentile bei 1,25 im zweiten bzw. 0,90 im dritten Trimenon. Auch hier ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied, ob die Messung eher am Anfang oder gegen Ende eines Kontrollzeitraumes stattgefunden hat ($P = 0,99$ bzw. $0,95$).

Zeitraum (SSW)	11.-14.	18.-22.	34.-36.
Anzahl (n)	278	257	237
PI (rechts)	1,28 ± 0,03 (0,34-3,36)	0,84 ± 0,02 (0,36-1,98)	0,59 ± 0,01 (0,14-1,08)
PI (links)	1,29 ± 0,03 (0,41-3,54)	0,88 ± 0,02 (0,19-2,27)	0,63 ± 0,01 (0,26-1,60)
mittlerer PI	1,28 ± 0,03 (0,44-2,83)	0,87 ± 0,02 (0,28-1,69)	0,61 ± 0,01 (0,32-1,12)

Tabelle 7: Pulsatility-Indices (Mittelwerte mit Standardabweichung und Minimal- bzw. Maximalwerten) der Doppleruntersuchungen an der A. uterina

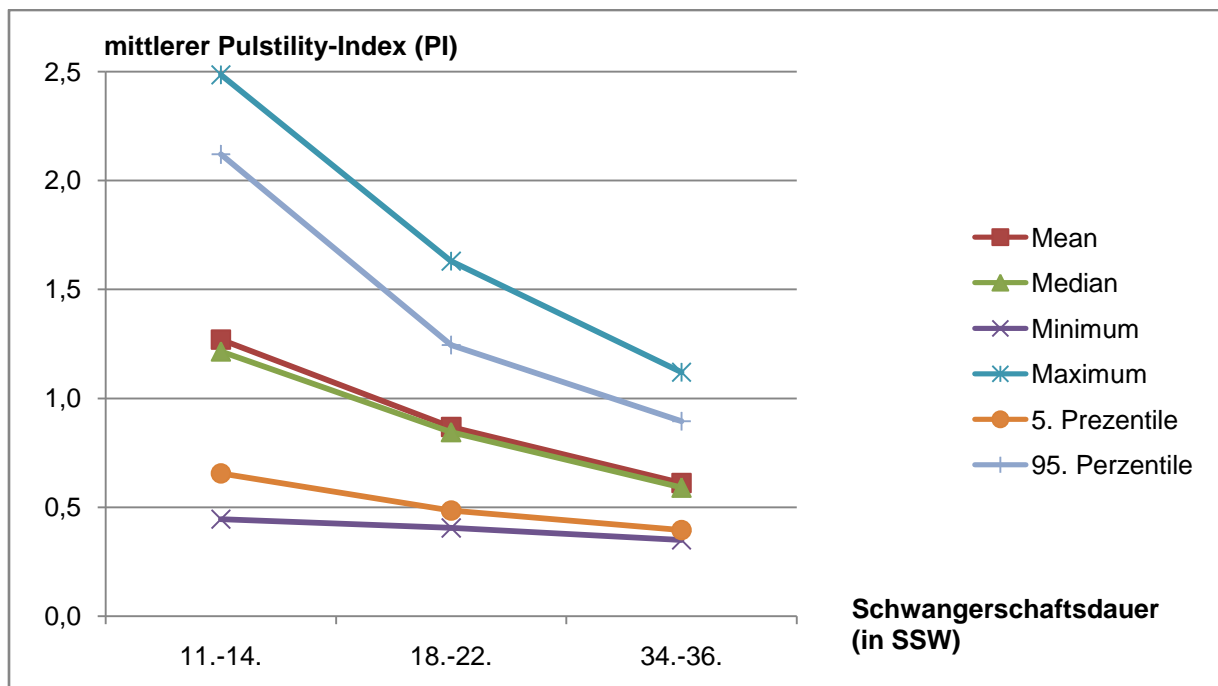


Abbildung 8: mittlerer PI im Schwangerschaftsverlauf

4.2.2 Notches

Am ersten Untersuchungszeitpunkt (11.–14. SSW) findet sich in 29,3% der Fälle ein beidseitiges Notching der Uterinarterie, in 28,3% beobachtet man einseitiges Notching. Bereits im 2. Trimenon verringert sich der Anteil mit beidseitigem Notching auf 14 Patientinnen (5,4%). Bei weiteren Kontrollen fiel nur noch bei einzelnen Patientinnen einseitiges Notching auf (siehe Tabelle 8).

Zeitraum (SSW)	11-14	18-22	34-36
Anzahl (n)	273	257	237
einseitig (links)	43 (15,5%)	38 (14,8%)	19 (8,0%)
einseitig (rechts)	35 (12,8%)	29 (11,3%)	14 (5,9%)
beidseits	80 (29,3%)	14 (5,4%)	-

Tabelle 8: Notches

4.3 Pentraxin-3-Konzentrationen

4.3.1 Normalwerte und Perzentilenverteilung

Zur Bestimmung der Normalwerte und ihrer Perzentilenverteilung werden die PTX-3-Werte normalverlaufender Schwangerschaften ohne Komplikationen ausgewertet. Diagnosen, von denen angenommen wird, dass sie Einfluss auf die Konzentration des PTX-3 nehmen, werden hierbei aus der Analyse ausgeschlossen: Zum einen die Patientinnen, die eine Präeklampsie entwickelt haben, zum anderen Schwangere, deren Neugeborene „Small for Gestational Age“ waren, also Wachstumsretardierungen aufwiesen.

Seltenere Krankheitsbilder, die mit einem Anstieg des PTX-3 einhergehen wie z.B. die kleinzellige Vaskulitis oder rheumatoide Arthritis sind im Studiendesign als Ausschlusskriterien aufgeführt und werden somit gar nicht in die Studie aufgenommen. Akute Myokardinfarkte oder septische Krankheitsbilder, die eine Erhöhung des PTX-3 als akute-Phase-Protein verursachen kamen im Studienverlauf nicht vor.

Die Konzentration des Pentraxin-3 liegt im Mittel bei 1,28 ng/ml im 1. Trimenon, fällt leicht ab im 2. Trimenon (Mittelwert bei 1,23 ng/ml), um dann gegen Ende der Schwangerschaft wieder anzusteigen. Im 3. Trimenon liegt die mittlere PTX-3-Konzentration dann bei 1,91 ng/ml. Unmittelbar nach der Geburt sind die gemessenen Werte am höchsten, im Mittel bei 4,72 ng/ml (siehe Abbildung 9 und Tabelle 9).

PTX-3-Konzentration in ng/ml	n	Mittelwert	Median	Min	Max	5.Perzentile	95.Perzentile	Standardabweichung
11.-14. SSW	131	1,28	1,25	0,31	3,01	0,51	2,21	0,49
18.-22.SSW	130	1,23	1,18	0,47	2,90	0,61	2,08	0,44
34.-36. SSW	129	1,91	1,70	0,62	8,88	0,89	3,98	0,44
postpartal	120	4,72	4,03	1,09	14,94	1,32	11,38	2,94

Tabelle 9: PTX-3-Konzentrationen (in ng/ml)

Vergleicht man die Werte der drei Abnahmeintervalle, also 1., 2. und 3. Trimenon untereinander, so ergibt sich kein Zeiteffekt zwischen den 1. und 2. Trimenon ($p = 0,10$). Das bedeutet, dass kein statistisch signifikanter Unterschied der PTX-3-Konzentrationen zwischen der 11. und 22. SSW festgestellt werden konnte. Anders verhält es sich, wenn man das 1. Trimenon mit dem dritten Trimenon vergleicht: hier lässt sich sehr wohl ein Zeiteffekt nachweisen ($p < 0,000001$). Auch zwischen dem 2. und 3. Trimenon bestätigt sich dieser Zeiteffekt ($p < 0,000001$). Das bedeutet, dass erst mit dem dritten Trimenon eine deutliche Konzentrationszunahme der PTX-3-Werte nachgewiesen werden können, die Werte während der ersten beiden Trimenon aber statistisch gesehen unverändert bleiben.

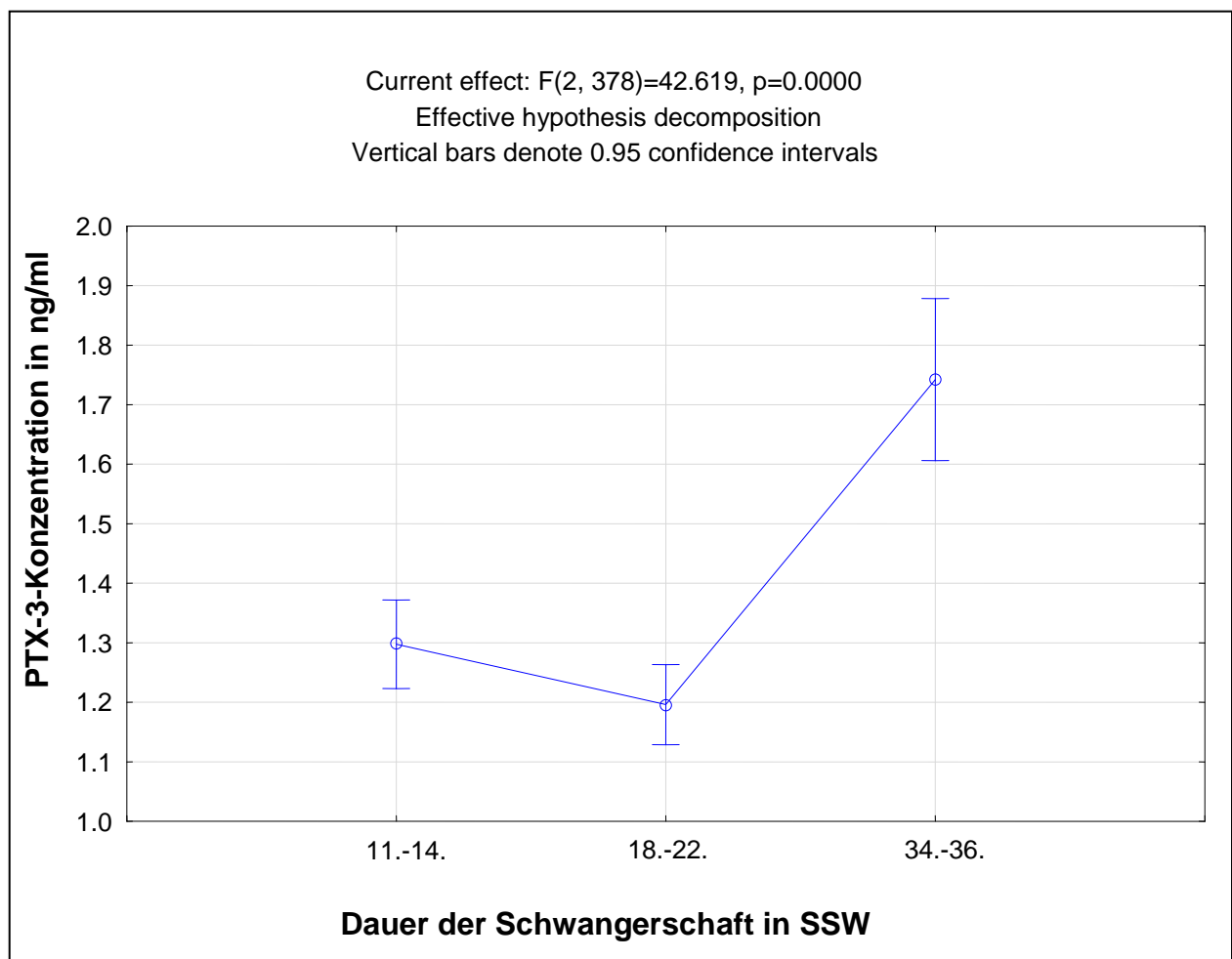


Abbildung 9: Zeiteffekte der PTX-3-Konzentration zwischen den einzelnen Abnahmeintervallen

Betrachtet man die Werte eines jeden Trimenon gesondert, so ergibt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang bzw. Unterschied, ob die Probeentnahme eher am Anfang (also z.B. in der 11. SSW) oder eher am Ende (z.B. in der 14.SSW) eines Untersuchungszeitraumes stattgefunden hat. Dennoch lässt sich der oben beschriebene Trend bestätigen, allerdings sind die Unterschiede zu gering, um statistisch relevant zu sein. So ist der Mittelwert der PTX-3-Konzentration mit vollendeter 11. SSW: 1,16 ng/ml

12. SSW: 1,29 ng/ml

13. SSW 1,31 ng/ml (siehe Abbildung 11).

Auch im 2. Trimenon lässt sich das leichte Abflachen der Kurve in den einzelnen SSW nachvollziehen (siehe Abbildung 10 und 11). So fallen die mittleren PTX-3-Konzentrationen bis zur vollendeten 21. SSW bis auf 1,19 ng/ml ab, um dann im 3. Trimenon wieder steiler anzusteigen (siehe Abbildung 13). In der 36. SSW findet man bereits einen mittleren Wert von 2,11 ng/ml, der dann bis zur Geburt weiter ansteigt.

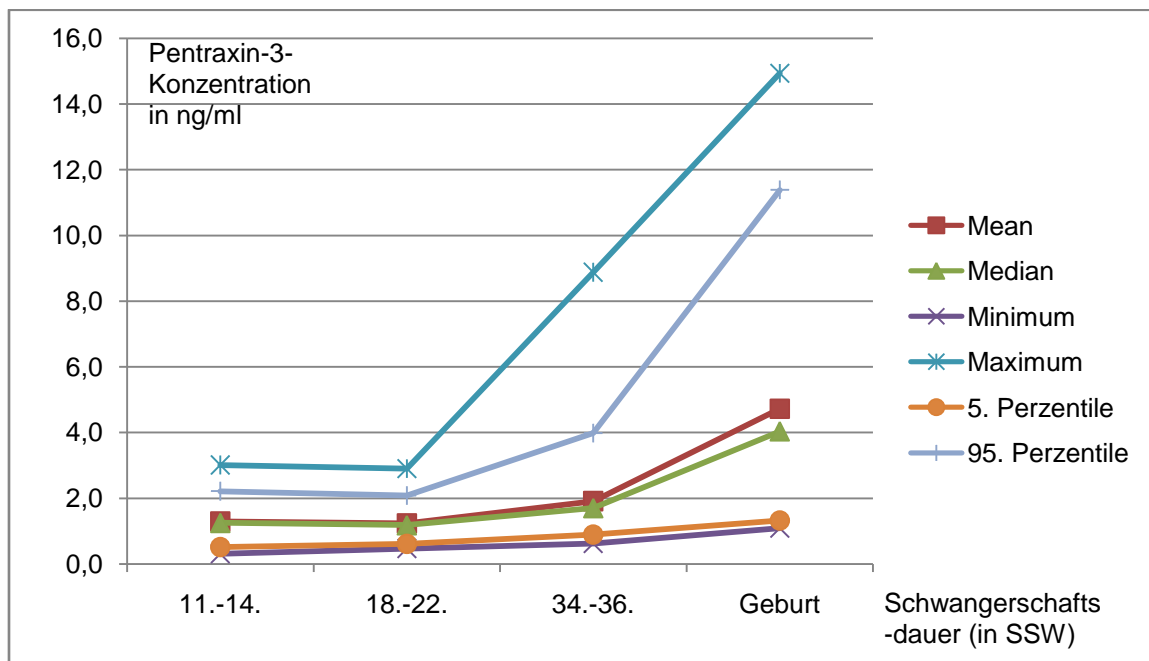


Abbildung 10: PTX-3-Konzentrationen im Schwangerschaftsverlauf

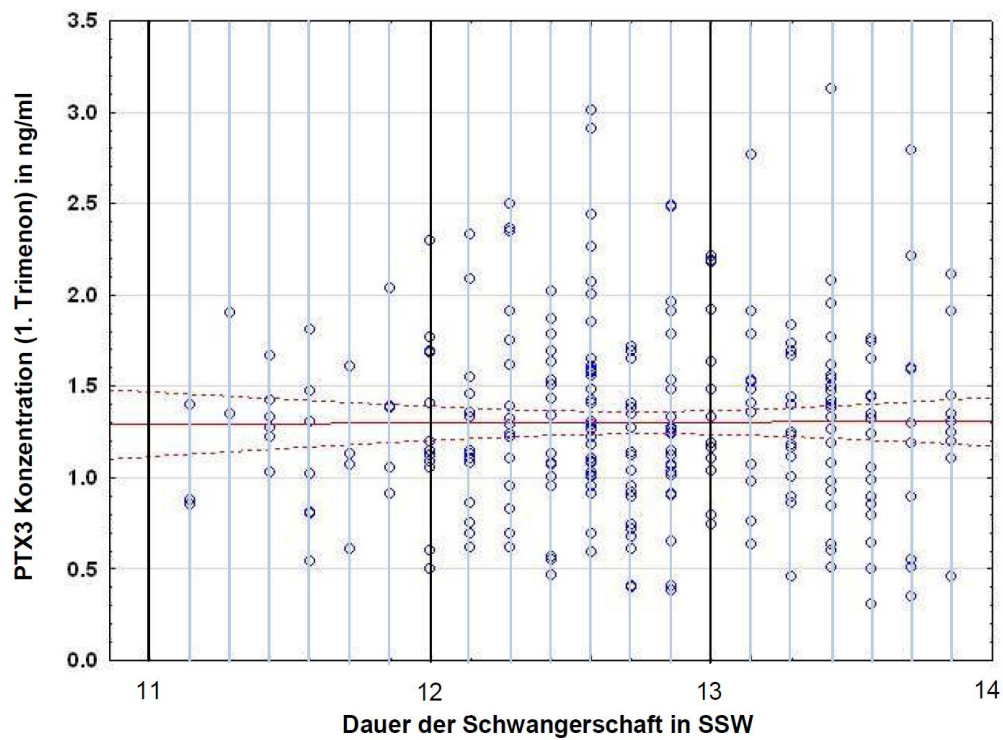


Abbildung 11: PTX-3-Konzentration im 1. Trimenon (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)

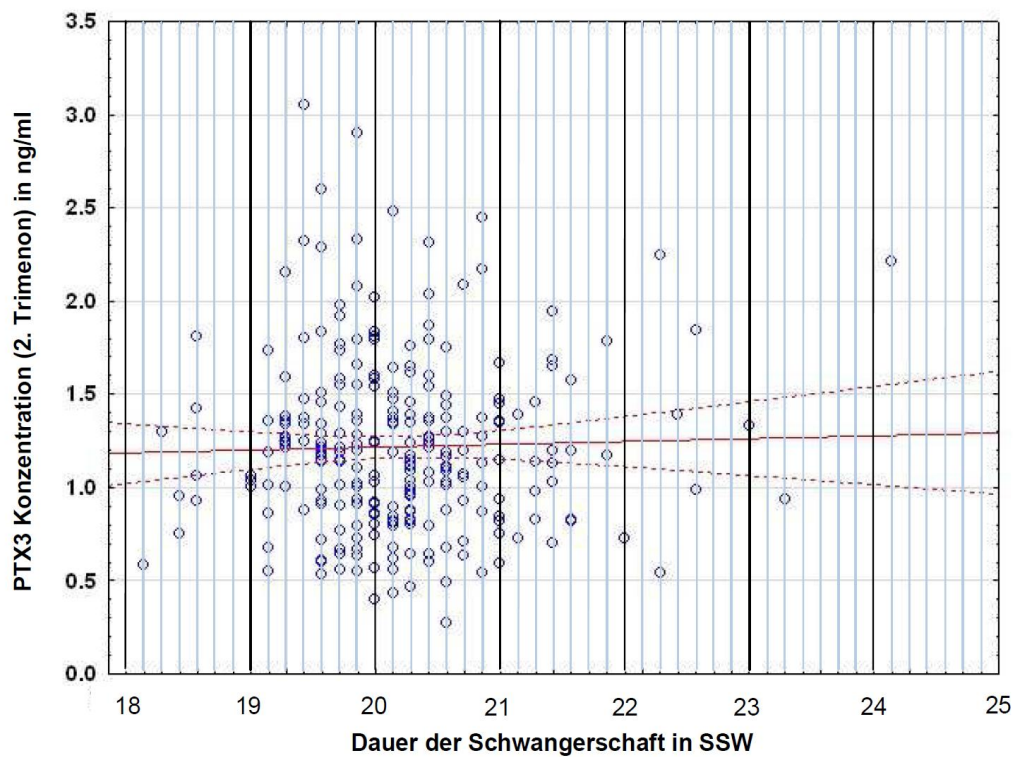


Abbildung 12: PTX-3-Kontentration im 2. Trimenon (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)

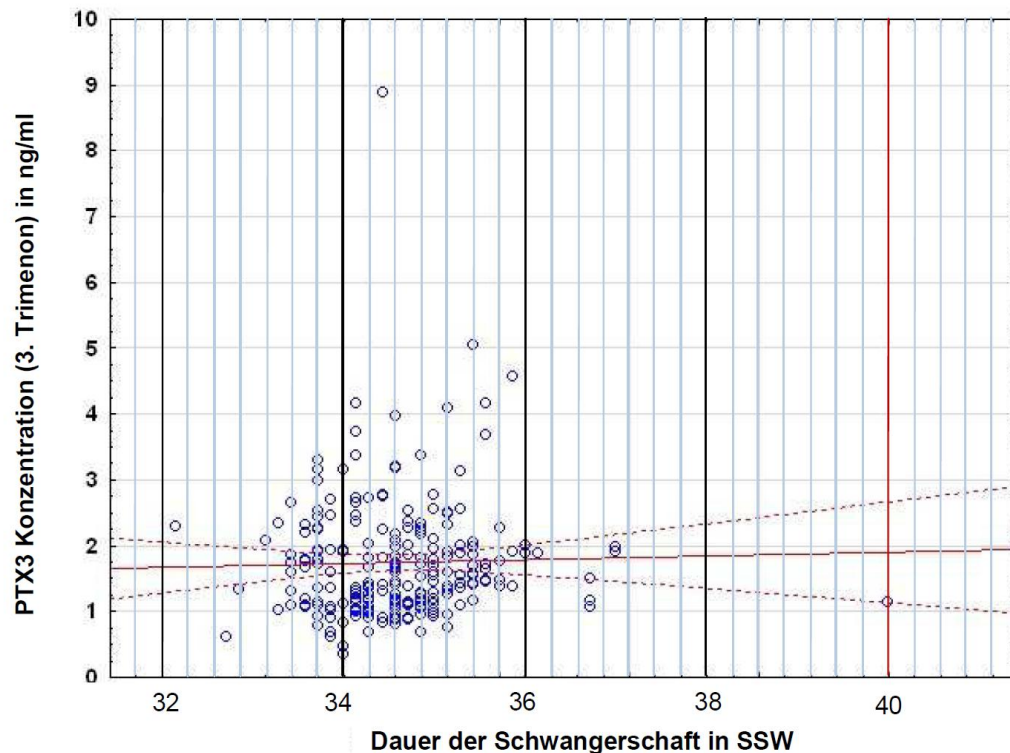


Abbildung 13: PTX-3-Konzentration im 3. Trimenon (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)

4.3.2 Postpartale PTX-3-Konzentrationen

Zum Zeitpunkt der Geburt steigen die PTX-3-Konzentrationen stetig an und erreichen mit der Geburt ihre maximalen Werte. Der Mittelwert der postpartalen Werte liegt bei 4,72 ng/ml. Der minimal gemessene Wert beträgt 1,09 ng/ml, der Maximale liegt bei 14,94 ng/ml.

Hierbei ergibt sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($P=0,0379$) je nach Entbindungsmodus. Schwangere, die per Sectio cesarea entbunden wurden, haben einen signifikant niedrigeren PTX-3-Wert (3,91ng/ml) als diejenigen, die eine Spontangeburt hatten. Dabei gibt es jedoch keinen Unterschied, ob die Entbindung spontan oder vaginal-operativ mittels Saugglocke durchgeführt wurde.

Auch der Zeitpunkt der Geburt scheint Einfluss auf die Höhe der PTX-3-Konzentration zu nehmen. Je weiter die Geburt vor oder nach dem errechneten Geburtstermin stattfindet, desto mehr steigen die PTX-3-Werte an (siehe Abbildung 14).

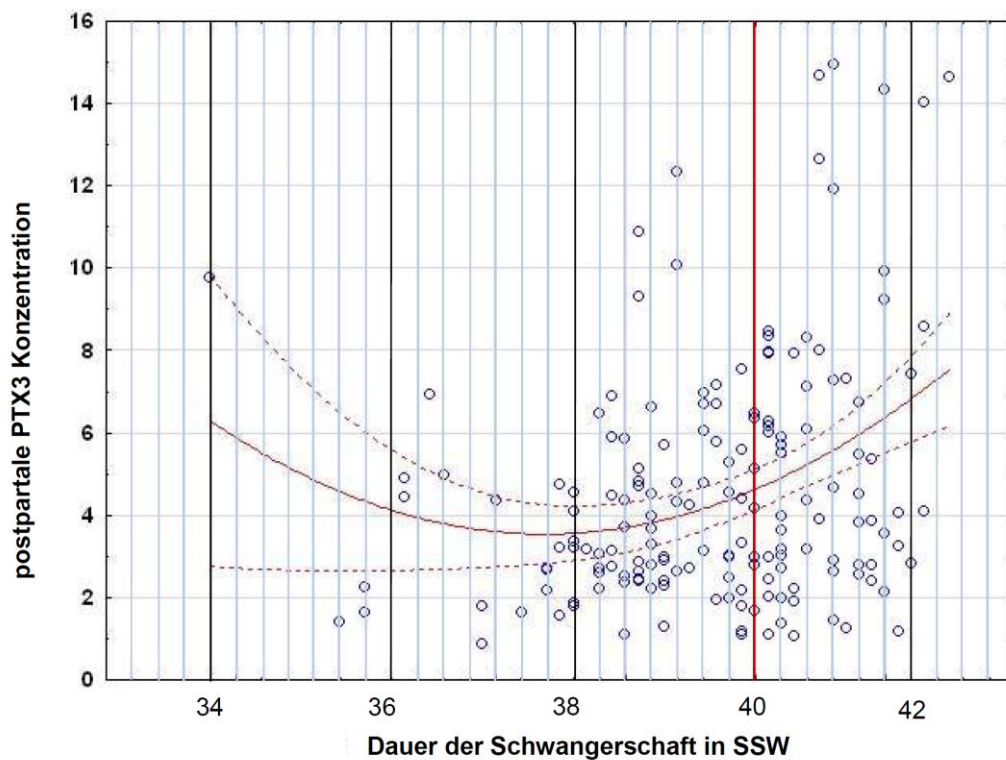


Abbildung 14: postpartale PTX-3-Konzentration (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)

4.4 Korrelation einzelner Risikofaktoren mit PTX-3 im 1. Trimenon

In einer Regressionsanalyse wird die PTX-3-Konzentration als abhängige Variable verschiedenen Parameter gegenübergestellt, um mögliche Korrelationen oder Abhängigkeiten zu ermitteln. Dabei gehen die PTX-3-Werte aus dem ersten Trimenon zusammen mit den Risikofaktoren, die das Entstehen einer Präeklampsie begünstigen in die Analyse ein. Berücksichtigt wird das maternale Alter, BMI vor Studienaufnahme, der mittlere arterielle Blutdruck und der mittlere PI. Es erwies sich, dass PTX-3 zu keinem der untersuchten Parameter eine Korrelation zeigt, das heißt PTX-3 ist als von diesen Parametern unabhängige Variable zu betrachten (siehe Tabelle 10).

	b	Std.Err.	p-Wert
Intercept	2,17	0,40	0,00
Alter	-0,01	0,01	0,09
BMI (Studienaufnahme)	0,00	0,01	0,87
MAP	-0,01	0,00	0,15
Mittlerer PI	-0,07	0,07	0,27

Tabelle 10: Regressionsanalyse mit PTX-3 als abhängige Variable

Weiterhin wurde in einfaktoriellen ANOVA-Tests eine mögliche Korrelation der PTX-3-Konzentration mit den Parametern Rauchen vor und während der Schwangerschaft, Gravidität und Notching analysiert. Es erwies sich sodann, dass Schwangere, die vor der Geburt rauchten, einen signifikant niedrigeren PTX-3-Wert aufwiesen als die Nichtraucher ($p = 0,0082$). Rauchen während der Schwangerschaft scheint keinen Einfluss auf die PTX-3-Konzentration zu nehmen ($p = 0,089$). Ebenso verhielt es sich für den Parameter Gravidität: es zeigte sich kein Zusammenhang zum PTX-3. Erstgravida, die ja ein erhöhtes Risiko für Präeklampsie aufweisen, hatten keine signifikant erhöhten PTX-3-Werte ($p = 0,15$). Auch eine Korrelation des PTX-3-Wertes zum Vorhandensein eines frühdiastolischen Notches konnte nicht nachgewiesen werden ($p = 0,47$ bzw. $p = 0,31$).

4.5 Auswertung der Gruppe der SGA-Kinder und PE-Schwangerschaften

Im Studienverlauf können zwei Gruppen gesondert betrachtet werden: Patientinnen mit Präeklampsie und Schwangere, deren Neugeborene Wachstumsretardierungen aufwiesen, also Small-for-Gestational-Age (SGA) waren.

In unserem Studienkollektiv entwickeln fünf Schwangere eine Präeklampsie, eine davon ein HELLP-Syndrom. Keine der Patientinnen zeigt eine schwere Präeklampsie mit Symptomen vor der 34.SSW (early-onset PE). Drei Schwangere können spontan entbunden werden, zwei per Sectio cesarea. Bei vier Patientinnen wird die Geburt medikamentös mittels Prostaglandin-Tablette (3mg) eingeleitet. Zwei der Geburten sind Frühgeburten vor der vollendeten 37. SSW, davon wird ein Neugeborenes zur Überwachung auf die neonatologischen Station verlegt. Zwei der Neugeborenen sind Small-for-Gestational-Age mit einem Geburtsgewicht unterhalb der 10. Perzentile.

Bei den Ultraschall-Untersuchungen zeigt im 1. Trimenon keine der Patientinnen auffällige Dopplersonogramme. Die gemessenen Pulsatility-Indizes befinden sich im Normbereich und nur eine Patientin zeigt einseitiges Notching. Beidseitiges Notching kann nicht beobachtet werden. Im weiteren Verlauf fallen die PI-Werte der Präeklampsie-Gruppe nicht so deutlich ab und liegen im 3. Trimenon über der Gruppe der normalen Schwangerschaften (siehe Abbildung 15). Es ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied zu den Werten der normalen Schwangerschaften (Regressionsanalyse: $P=0,23$).

In Bezug auf die PTX-3-Werte dieser Patientinnen-Gruppe kann kein statistisch signifikanter Unterschied zur Gruppe mit den normalverlaufenden Schwangerschaften nachgewiesen werden (Regressionsanalyse: $P=0,54$). Die PTX-3-Konzentrationen der Präeklampsie-Patientinnen liegen in der 11.-14. SSW zwischen 0,41ng/ml und 1,68ng/ml (siehe Abbildung 16), also nicht erhöht im Vergleich zur normalen Schwangerschaft. Auch an den anderen Untersuchungszeitpunkten lässt sich kein statistisch signifikanter Unterschied erkennen.

Im Nachbeobachtungszeitraum konnten vier der fünf Patientinnen im Rahmen der Studie innerhalb von 12 Wochen nach der Geburt nochmals kontrolliert werden. Zwei Patientinnen wiesen noch eine grenzwertige Hypertonie auf, die PTX-3-Konzentrationen waren bereits deutlich abgesunken, im Mittel auf 1,08 ng/ml.

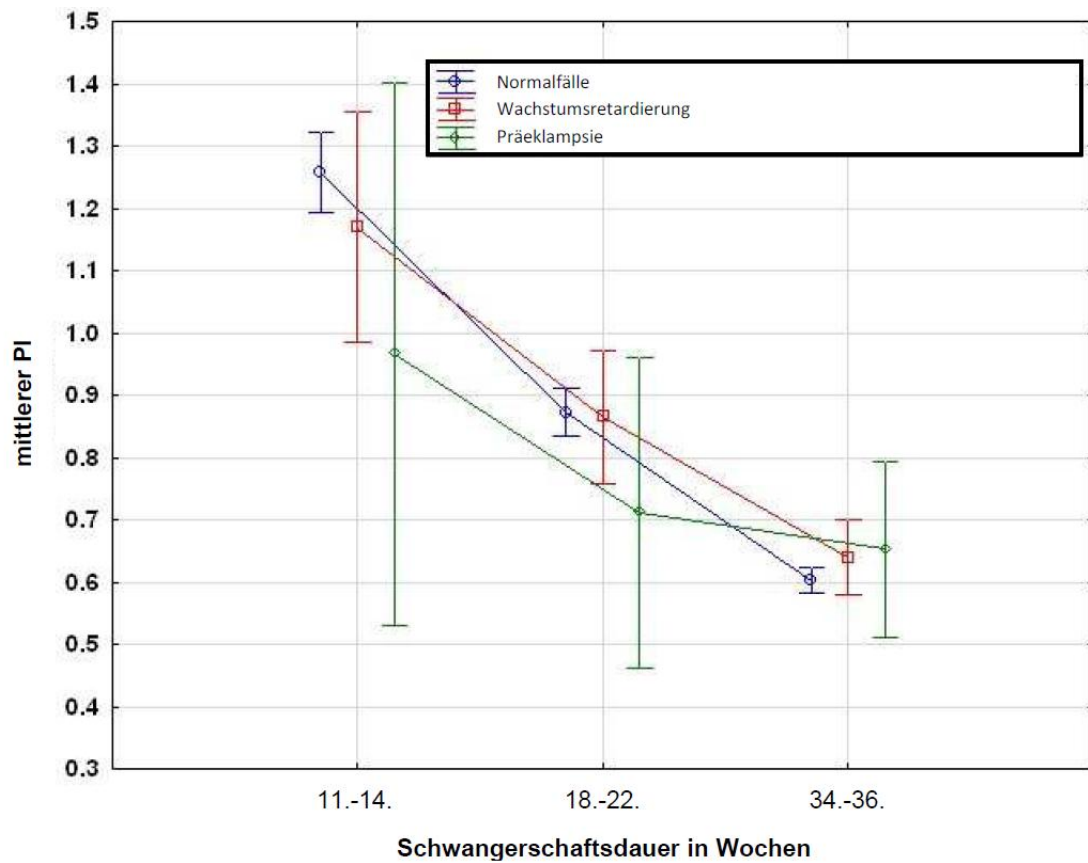


Abbildung 15: mittlerer PI der PE und SGA (mit Konfidenzintervall)

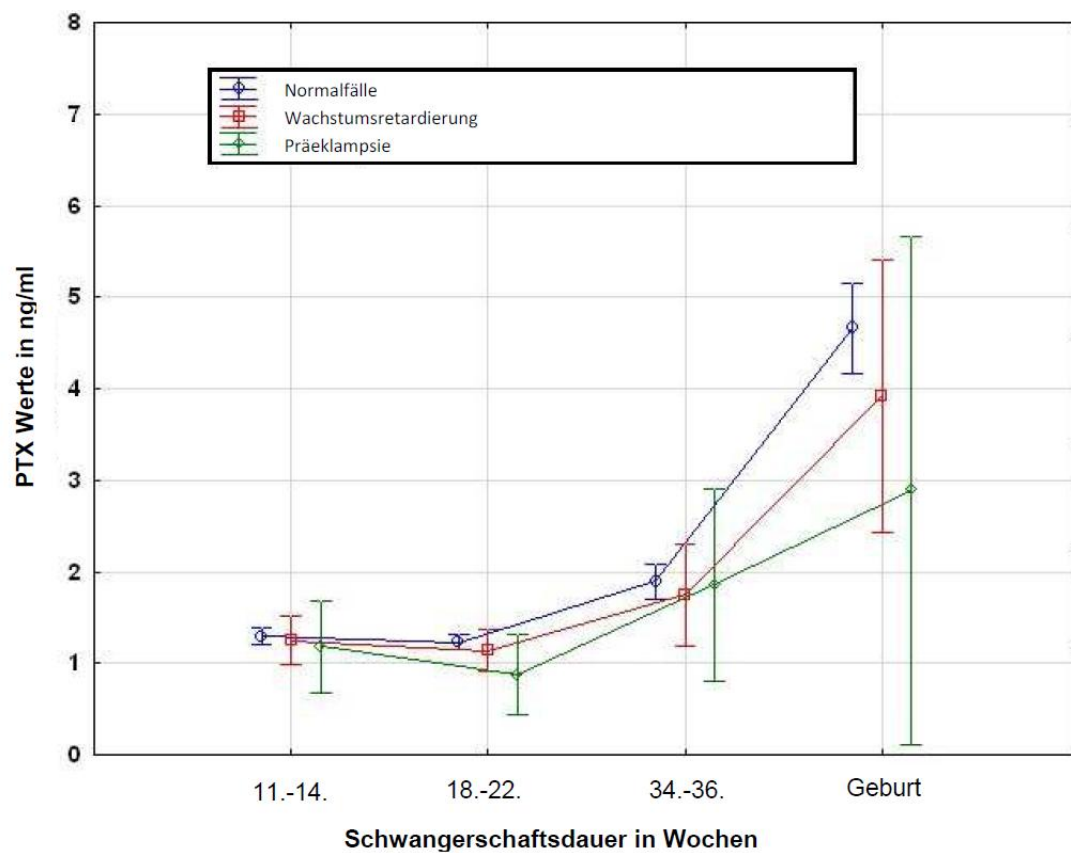


Abbildung 16: PTX-3-Werte der PE und SGA (mit Konfidenzintervall)

Die zweite Gruppe umfasst die Patientinnen, deren Neugeborene Small-for-Gestational-Age waren, das heißt deren Geburtsgewicht in Relation zum Schwangerschaftsalter unterhalb der 10. Perzentile lag. In diese Gruppe fallen 29 der 275 geborenen Kinder, das entspricht 10,0%.

19 Schwangere dieser Gruppe werden spontan entbunden, davon fünf unter geburtseinleitenden Maßnahmen. Bei zwei Geburten wird eine vaginal-operative Entbindung notwendig, achtmal wird per Sectio cesarea entbunden. Zwei der Geburten sind Frühgeburten vor der vollendeten 37. SSW. Zwei Patientinnen entwickeln eine Präeklampsie.

In der Doppler-Ultraschalluntersuchung in der 11. bis 14. SSW liegt der mittlere PI der Schwangeren dieser Gruppe mit 1,17 unter der Gruppe der normalverlaufenden Schwangerschaften (siehe Abbildung 15). Dennoch finden sich vier Patientinnen mit eindeutig pathologischem Dopplersonogramm mit beidseitigem Notching und einem erhöhten mittleren $PI \geq 2,35$. Weitere drei Patientinnen weisen entweder einseitig erhöhte PI-Werte oder beidseitiges Notching auf. Im weiteren Schwangerschaftsverlauf bleiben die PI-Werte dieser Gruppe jedoch über denen der normalen Schwangerschaften. Im 3. Trimenon errechnet sich hier ein mittlerer PI von 0,64. Statistisch signifikante Unterschiede errechnen sich dabei in der Regressionsanalyse aufgrund der geringen Fallzahl allerdings nicht ($P=0,23$).

Auch für die Auswertung der PTX-3-Werte ergibt sich für diese Gruppe der SGA-Kinder kein statistisch signifikanter Unterschied zu den gesunden Schwangeren (siehe Abbildung 16). Die mittleren PTX-3-Konzentrationen sind im Vergleich zur normalen Gruppe eher leicht erniedrigt, statistisch ist dies allerdings nicht signifikant (Regressionsanalyse: $P=0,54$).

5 DISKUSSION

Die Präeklampsie stellt nach wie vor eine der bedeutendsten Komplikationen für Mutter und Kind in der Schwangerschaft dar. Um die einzig derzeit mögliche Therapie mit niedrig dosierter Acetylsalicylsäure frühzeitig vor der vollendeten 16. SSW einsetzen zu können, ist eine Diagnose in der Frühschwangerschaft unumgänglich (CLASP 1994). Im Fokus der aktuellen Forschung wird dazu eine Kombination aus Doppleruntersuchungen der Uterinarterien und möglichen biochemischen Markern gesehen. Diskutiert werden unter anderem PAPP-A, PIGF, PP-13, Endoglin, Inhibin-A, Activin-A, MMP-9, TNF-R1, PTX-3 und P-Selektin [(R. Akolekar, et al. 2011, Poon, et al. 2010)]. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Rolle, die das Pentraxin-3 in einer dopplerkombinierten Frühdiagnostik spielen könnte. Dabei sollen vor allem Normwerte für die PTX-3-Konzentrationen bei Schwangeren erstellt und im Verlauf dargestellt werden.

5.1 Studienpopulation

In der deskriptiven Analyse der mütterlichen anamnestischen und klinischen Daten zeigte sich ein gemischtes Kollektiv mit einem durchschnittlichen mütterlichen Alter von 33 Jahren. 41% der Patientinnen waren Primigravida. Der mittlere BMI betrug 23kg/m², 7,2% der Schwangeren rauchten während der Schwangerschaft.

Im Vergleich dazu waren die Patientinnen, die eine Präeklampsie entwickelten im Mittel 31,6 Jahre alt, hatten einen deutlich höheren mittleren BMI mit 29,7kg/m², also einen klassischen Risikofaktor für die Präeklampsie. Vier der fünf Patientinnen waren Primipara (80%), zwei Patientinnen rauchten auch während der Schwangerschaft. Dennoch sind diese Aspekte zur Erstellung eines Risikoprofils rein deskriptiv, da sich anhand der geringen Fallzahlen keine statistisch signifikanten Unterschiede ergeben können.

5.2 Screening anhand der Dopplerbefunde

Eine fehlerhafte Plazentation und Trophoblastinvasion mit der Folge der fehlerhaften Umformung der Spiralarterien wird als einer der Hauptfaktoren für die Entwicklung einer Präeklampsie und intrauterinen Wachstumsretardierung angesehen (Brosens IA 1967). Physiologischerweise nimmt der Widerstand kontinuierlich ab und die frühdiastolische Inzisur verschwindet (siehe auch Kapitel 1.1.3). Diese Veränderungen oder das pathologische Ausbleiben dieser Veränderungen lassen sich im Dopplerultraschall an der A. uterina nachweisen.

5.2.1 1.Trimenon

Ein Screening für Plazentationsstörungen im ersten Trimenon kann anhand der Dopplerflussmessung der A.uterinae technisch in einem hohen Prozentsatz (96%) durchgeführt werden (Kaisenber von C.S. 2012). A.M. Martin et al. untersuchten 2001 in einer prospektiven unselektionierten Studie mit 3324 Schwangeren den prädiktiven Wert des Pulsatility-Index der A. uterinae. Es ergab sich ein Wert für die 95. Perzentile von 2,35. Das bedeutet, dass unter den 5% der Untersuchten mit einem $PI \geq 2,35$ 27% der Frauen waren, die in der Folge eine Präeklampsie entwickelten und 12% der Frauen, deren Neugeborene ein Geburtsgewicht unterhalb der 10. Perzentile zeigten. Die Sensitivität liegt bei 60% für die PE und 28% für IUGR, falls diese Komplikationen eine Entbindung vor der 32.SSW notwendig machen (Martin, et al. 2001). Weiterhin konnte Martin in 55,5% der Fälle beidseitiges frühdiastolisches Notching diagnostizieren, in 18,7% fand sich einseitiges Notching.

Die vorliegende Studienpopulation ist anhand der demographischen Charakteristika mit der 2001 von Martin publizierten Studie durchaus vergleichbar. Auch die Inzidenzen für PE und IUGR verhalten sich ähnlich. Die Anzahl der untersuchten Frauen unterscheidet sich jedoch um mehr als das Zehnfache. In den vorliegenden Studiendaten ergibt sich für die 95. Perzentile des PI ein Wert von 2,12. Während der drei Wochen zwischen der 11. bis zu vollendeten 13. SSW zeigte sich für den PI keine signifikante Veränderung abhängig vom Untersuchungszeitpunkt ($p = 0,2$). Diese Ergebnisse stimmen mit den von Martin gewonnenen Aussagen überein. Dennoch konnte kein eindeutig pathologisches Dopplersonogramm mit erhöhtem PI

und beidseitigem Notching bei einer der Patientinnen mit Präeklampsie beobachtet werden. Dies liegt möglicherweise daran, dass keine dieser Patientinnen eine schwere Verlaufsform aufwies, die eine Entbindung vor der vollendeten 32. SSW notwendig machte. In der Gruppe der SGA-Kinder konnte man in vier der 29 Fälle ein eindeutig pathologisches Dopplersonogramm diagnostizieren, jedoch ist diese Pathologisierung der Dopplerbefunde tendenziell, da sie aufgrund ihrer geringen Fallzahl keine statistische Signifikanz erreicht.

Ein beidseitiges frühdiastolisches Notching zeigte sich in 29,3%, einseitige Notches konnten in 28,3% der Fälle beobachtet werden. Möglicherweise zeigen weitere Untersuchungen zu diesem Thema in Zukunft auch eine geringere Prävalenz beidseitiger Notch-Befunde.

5.2.2 2. und 3. Trimenon

Die Durchführung eines prädiktiven Screenings mittels Doppleruntersuchung der Uterinarterien erfolgte im Rahmen der Mutter-Kind-Pass-Untersuchungen zwischen der 18. und 22. SSW. Bei pathologischen Befunden, also pathologisch erhöhtem PI und/oder persistierenden Notches wurden die Frauen in der 26. SSW erneut kontrolliert. Die dabei gewonnenen Untersuchungsbefunde decken sich mit den von Schaffer publizierten Referenzkurven (Schaffer 2008), der mittlere PI sinkt von 0,86 im zweiten auf 0,61 im dritten Trimenon. Die Befunde der PE- und IUGR-Schwangerschaften lassen im Vergleich mit den Referenzkurven eine deutliche Pathologisierung erkennen, dennoch sind diese Ergebnisse aufgrund ihrer geringen Fallzahl rein deskriptiv zu werten und statistisch nicht signifikant (siehe Abbildung 15).

5.3 PTX-3

In der Pathophysiologie der Plazentationsstörungen wird neben der mangelnden Umformung der Spiralarterien der endotheliale Antwort auf die verminderte Sauerstoffversorgung eine weitere zentrale Rolle zugesprochen (siehe Kapitel 1.1.3). Dies ruft eine immunologische Reaktion hervor, in deren Folge neben

proinflammatorischen Zytokinen und freien Radikalen unter anderem auch PTX-3 freigesetzt wird. Daher geht man davon aus, dass die PTX-3-Konzentrationen bei Präeklampsie-Patientinnen erhöht sind [(Papageorgiou AT 2007) (Cetin I 2006) (Rovere-Querini P 2006)]. Weiterhin weiß man, dass Schwangere im Vergleich zu nichtschwangeren Frauen leicht erhöhte PTX-3-Werte aufweisen, da jede, auch die nicht gestörte Plazentation eine gewisse immunologische Reaktion hervorruft, in deren Folge auch PTX-3 ausgeschüttet wird (Redman 1999). Es stellt sich also die Frage, in welchen Konzentrationsbereichen sich das Pentraxin-3 im Verlauf einer Schwangerschaft bewegt und inwiefern es sich im Falle einer Präeklampsie erhöht darstellt.

5.3.1 Normalwerte mit Perzentilenverteilung

Die Konzentrationsbestimmungen des PTX-3 fanden in jedem Trimenon statt, eine weitere Messung wurde unmittelbar nach der Geburt durchgeführt. Während im ersten Trimenon die Werte im Mittel bis auf 1,28 ng/ml (1,20 ng/ml–1,37 ng/ml)¹ ansteigen, fallen sie im zweiten Trimenon minimal auf einen Mittelwert von 1,23 ng/ml (1,15 ng/ml–1,30 ng/ml) zurück. Erst im dritten Trimenon tritt eine deutliche Erhöhung der Konzentrationen ein: der Mittelwert ist hier bei 1,91 ng/ml (1,73 ng/ml–2,10 ng/ml). Erst mit Eintritt des dritten Trimenon ist statistisch ein signifikanter Zeiteffekt nachweisbar. Während der drei Wochen innerhalb eines Studienkontrollintervall (z.B. von 11+0 bis 13+6 SSW) ergaben sich keine statistisch signifikante Unterschiede mit dem Schwangerschaftsalter (siehe Abbildung 9).

Da die Unterschiede in der Frühschwangerschaft bis zum Ende des zweiten Trimenon sehr gering und nicht statistisch signifikant sind, bleibt zu diskutieren, inwiefern ein einheitlicher Referenzbereich von 0,5 ng/ml bis 2,2 ng/ml (5. bzw. 95. Perzentile) für die ersten beiden Trimenon realistisch erscheint. Da in diesen Zeitraum auch das erste und das zweite Screening möglicher Plazentationsstörungen fallen, gäbe es somit einen einheitlichen pathologischen Wert in Sinne eines Screeningmarkers.

¹ In Klammern angegeben ist das 95% Konfidenzintervall.

Zum Zeitpunkt der Geburt finden sich mit 4,72 ng/ml die maximalen Mittelwerte. Dabei ergibt sich ein statistisch signifikanter Unterschied je nach Geburtsmodus. Schwangere, die spontan entbinden haben höhere PTX-3-Werte, als diejenigen, die per Sectio cesarea entbinden. Dies lässt sich möglicherweise durch die komplexen humoralen und immunologischen Vorgänge erklären, die zur Auslösung der Geburt und zur Ausstoßung der Plazenta führen. PTX-3 trägt dazu bei, körpereigene Zellen oder Zellbestandteile zu erkennen und zu beseitigen (Paramita 2006). Apoptose und Zellerneuerung sind normale Mechanismen während der Schwangerschaft, die zur Reifung und Involution der Plazenta beitragen (Rovere-Querini P 2006). Durch die physiologische Ausstoßung der Plazenta bei Spontangeburt werden möglicherweise höhere PTX-3-Konzentrationen erreicht.

5.3.2 Prädiktiver Wert des PTX-3

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene maternale und klinische Faktoren, die eine mangelhafte Plazentation oder das Entstehen einer Präeklampsie begünstigen in Abhängigkeit von PTX-3 analysiert. Die Parameter wurden dabei als voneinander unabhängig betrachtet. Ausgewertet wurden das maternale Alter, BMI vor Studienaufnahme, der mittlere arterielle Blutdruck, Rauchen vor und während der Schwangerschaft, der mittlere PI, Notching und die Gravidität. Es zeigte sich, dass nur für einen der untersuchten Parameter statistisch signifikante Zusammenhänge nachgewiesen werden konnten: Rauchen vor der Schwangerschaft. Die Raucherinnen wiesen signifikant niedrigere PTX-3-Konzentrationen auf.

Die Unabhängigkeit der PTX-Konzentrationen von den dopplersonographischen Variablen PI oder Notching oder anderen Risikofaktoren, die die Entstehung einer Präeklampsie begünstigen, ist eine wichtige Charakteristik dieses neuen Screeningmarkers. Damit lässt sich möglicherweise das Risikoprofil der Patientinnen um einen Faktor erweitern und die Risikoabschätzung exakter gestalten.

Gesondert betrachtet wurden die PE-Schwangerschaften und die Gruppe der SGA-Kinder, obgleich bei dieser geringen Fallzahl ohnehin nur von der Bestätigung eines Trends auszugehen wäre. Es wurden mit den Daten aus vier Messzeitpunkten

Regressionsanalysen durchgeführt. Dabei ergab sich weder für die fünf Präeklampsie-Patientinnen noch für die Gruppe der SGA-Kinder ein statistischer Unterschied im Hinblick auf das PTX-3. Es konnten somit keine erhöhten PTX-3-Werte im Sinne eines Screening-Markers im ersten Trimenon erfasst werden. Unter den beobachteten Präeklampsien fanden sich allerdings auch keine frühen, schweren Präeklampsieformen, die eine Entbindung vor der 32. SSW notwendig machen würden (early-onset PE). Bei diesen Fällen würde man eine stärkere endotheliale Dysfunktion vermuten und von stärker abweichenden PTX-3-Konzentrationen ausgehen (Hamad, et al. 2012).

5.4 Ausblick für Forschung und Klinik

Vorangehend muss zusammenfassend festgestellt werden, dass die Anzahl der eingebrachten Studienpatientinnen, die Teil einer multizentrischen Studie sind, die Aussagen limitiert. Die statistische Analyse dieser begrenzten Studiendaten lässt nicht den Schluss zu, dass der Marker Pentraxin-3 als Früherkennungsmarker geeignet ist. In unserem Kollektiv ist die Anzahl der aufgetretenen Präeklampsiefälle zu gering, um statistische Signifikanz zu erreichen, allerdings ist auch kein Trend erkennbar. Möglicherweise ist dies aber auch durch das Fehlen schwerer, früher Präeklampsien, die eine Entbindung vor der 32.SSW notwendig machen, zu erklären.

Weiterhin ergibt sich aus der Analyse, dass PTX-3 unabhängig von demographischen und klinischen Faktoren ist. Dies gilt für alle Risikofaktoren, die das Entstehen einer Präeklampsie begünstigen ebenso wie für die Dopplerultraschall-Indizes. Diese Ergebnisse entsprechen den von Baschat 2009 in einer prospektiven Studie mit 111 Patienten vorgestellten Daten (Baschat AA 2009). Auch die in dieser Studie errechneten Median-Werte für die Serum-PTX-3-Konzentrationen bestätigen sich in unserer Analyse. Einer weiteren Studie, in der 2010 von Larsson Normwerte von PTX-3 in der Schwangerschaft veröffentlicht wurden, folgen unsere PTX-3-Normalkonzentrationen nur teilweise (Larsson, et al. 2011). Die von Larsson beschriebenen Referenzobergrenzen können nicht bestätigt werden. Die sich aus vorliegender Analyse ergebenden Werte sind deutlich niedriger und geben die Obergrenze für die ersten beiden Trimenon an.

Die erhobenen Befunde im Ultraschall-Doppler an der A. uterina entsprechen nur teilweise den von Martin publizierten Daten (Martin, et al. 2001). Der PI mit dem 95. Perzentil von 2,35 erscheint nach unserer Datenlage zu hoch. Ebenso kann der hohe Anteil beidseitiger frühdiastolischer Notches (55%) nicht bestätigt werden.

Es bleibt also abzuwarten, wie sich die Datenlage des PTX-3 als Screeningmarker im Rahmen der gesamten europäischen multizentrischen Studie mit über 4700 Patientinnen entwickelt, aus der sich ja die vorliegende Arbeit generiert. Sehr viel wahrscheinlicher nach derzeitiger Studienlage erscheint, dass sich andere Biomarker als Früherkennungsmarker durchsetzen werden. Akolekar beschreibt in einer 2012 veröffentlichten Studie die beiden Marker PAPP-A und PIGF in Kombination mit dem PI und MAP als Screening-Test, mit dem 96% der frühen PE-Formen (vor der 34. SSW) und 77% der späten PE-Formen (vor der 37. SSW) erkannt werden (R. Akolekar, et al. 2012). Dies scheint das neue Modell einer effektiven Präeklampsie-Früherkennung im ersten Trimenon darzustellen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Präeklampsie ist ein komplexes, schwangerschaftsspezifisches Syndrom, das schwere Komplikationen für Mutter und Kind nach sich ziehen kann. Um diese möglichst frühzeitig im Schwangerschaftsverlauf diagnostizieren und therapieren zu können, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, inwieweit der Marker Pentraxin-3 als Screeningmarker in Kombination mit Dopplerultraschalluntersuchungen etabliert werden kann bzw. wie sich seine Konzentrationen in einer unkomplizierten Schwangerschaft darstellen.

Dazu wurden 278 Frauen zum Zeitpunkt des Ersttrimenonscreenings in die prospektive Studie aufgenommen und im Rahmen des Studienprotokolls beobachtet. Kontrolliert wurden neben den gängigen Schwangerschaftsparametern die Konzentration des PTX-3 und der Dopplerultraschallindex PI im Schwangerschaftsverlauf und zum Zeitpunkt der Geburt. Die Werte der PTX-3-Plasma-Konzentration wurden hierbei mittels Sandwich-ELISA bestimmt.

Dabei konnten Normalwerte für das PTX-3 im Verlauf einer unkomplizierten Schwangerschaft etabliert werden. Die pathologische Obergrenze im Screeningzeitraum liegt mit der 95. Perzentile bei 2,2 ng/ml, da innerhalb der ersten beiden Trimenon kein signifikanter Unterschied in der Konzentration des PTX-3 festgestellt werden konnte. Weiterhin konnte man nachweisen, dass PTX-3 unabhängig von allen klinischen und demographischen Faktoren ist, die das Entstehen einer Präeklampsie begünstigen. Als prädiktiver Marker konnte PTX-3 in diesem Studienkollektiv nicht bestätigt werden, da sich aufgrund der geringen Fallzahlen weder für die Gruppe der Präeklampsie-Schwangerschaften noch für die Small-for-Gestational-Age-Kinder statistisch signifikante Unterschiede in Bezug auf das PTX-3 erkennen ließen.

Die Befunde aus den Dopplerultraschalluntersuchungen lassen sich größtenteils in den Kontext aktueller Studien einordnen. Die leicht erniedrigten PI-Werte und die geringere Prävalenz frühdiastolischer Notches können möglicherweise in Zukunft in aktuelleren Untersuchungen genauer bestimmt werden. Die Pathologisierung der Dopplerbefunde der Gruppe PE-Schwangerschaften und SGA-Kinder ist allerdings aufgrund ihrer geringen Fallzahl tendenziell und eher deskriptiv zu werten.

Es bleibt abzuwarten, ob sich die Datenlage in der Auswertung der gesamten multizentrischen Studie verändert oder sich die hier gewonnenen Trends im größeren Kollektiv bestätigen lassen.

7 ANHANG

7.1 Literaturverzeichnis

Akolekar, R., A. Syngelaki, R. Sarquis, M. Zvanca, und K.H. Nicolaides. „Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks.“ *Prenatal Diagnosis*, 2011: 31: 66-74.

Akolekar, Ranjit, Argyro Syngelaki, Leona Poon, David Wright, und Kypros H. Nicolaides. „Competing Risks Model in Early Screening for Preeclampsia by Biophysical and Biochemical Markers.“ *Fetal Diagnosis and Therapie*, 2012.

Alfirevic Z, Roberts D, Martlew V. „How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systemic review.“ *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 101 (2002): 6-14.

Barden, A.E., et al. „Does a predisposition to the metabolic syndrome sensitize women to develop pre-eclampsia?“ *J Hypertens* 17(9) (1999): 1307-15.

Baschat AA, Kasdaglis TL, Aberdeen GW. „Serum pentraxin-3 levels at 11-14 weeks´ gestation: assoiation with maternal and placental characteristics.“ *Am J Obstet Gynecol*.201(3), 2009: 298.e1-6.

Bottazzi B, Garlanda C, Salvatori G, Jeannin P, Manfredi A, Mantovani A. „Pentraxins as a key component of innate immunity.“ *Curr Opin Immunol* 18 (2006): 10-15.

Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. „The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy.“ *J Pathol Bacteriol* 93 (1967): 569-579.

Brown, M.A., et al. „The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP).“ *Hypertens Pregnancy* 20(1) (2001): IX-XIV.

Bujold, E, et al. „Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis.“ *Obstet Gynecol*, 116 2010: 402-414.

Camozzi M, Zacchigna S, Rusnati M, Coltrini D, Ramirez-Correa G, Bottazzi B, Mantovani A, Giacca M, Presta M. „Pentraxin 3 inhibits fibroblast growth factor 2-dependent activation of smooth muscle cells in vitro and neointima formation in vivo.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25 (2005): 1837–1842.

Cetin I, Cozzi V, Pasqualini F, Nebuloni M, Garlanda C, Vago L, Pardi G, Mantovani A. „Elevated maternal levels of the long pentraxin 3 (PTX3) in preeclampsia and intrauterine growth restriction.“ *Am J Obstet Gynecol* 194 (2006): 1347–53.

CLASP. „ a randomised trial of low-dose aspirin for the prevention and treatment of preeclampsia among 9364 pregnant women. CLASP (Collaborative Low-dose Aspirin Study in Pregnancy) Collaborative Study.“ 343 (1994): 619-29.

Conde-Agudelo, A., J. Villar, and M. Lindheimer. „World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia.“ *Obstet Gynecol* 104(6) (2004): 1367-91.

Dekker G, Sibai B. „Primary, and tertiary prevention of preeclampsia.“ 357 (2001): 209-15.

Douglas KA, Redman CWG. „Eclampsia in the United Kingdom.“ *BMJ* 4. 309 (1994): 1395-400.

Duckitt, K. and D. Harrington. „Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies.“ *Bmj* 330(7491) (2005): 565.

Duley, L. „Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Latin America and the Caribbean.“ 1992: 547-553.

Endresen, M.J., B. Lorentzen, T. Henriksen. „Increased lipolytic activity and high ratio of free fatty acids to albumin in sera from women with preeclampsia leads to triglyceride accumulation in cultured endothelial cells.“ *Am J Obstet Gynecol*, 1992: 167(2): p. 440-7.

Fazzini F, Peri G, Doni A, Dell’antonio G, Dal Cin E, Bozzolo E, D’auria F, Praderio L, Ciboddo G, Sabbadini MG, Manfredi AA, Mantovani A, Querini PR. „PTX3 in small-

vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation.“ *Arthritis Rheum* 44 (2001): 2841–50.

Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A. „Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility.“ *Annu Rev Immunol* 23 (2005): 337–66.

Gewurz H, Zhang XH, Lint TF. „Structure and function of the pentraxins.“ *Curr Opin Immunol* 7 (1995): 54–64.

Giguère Y, Charland M, Bujold E. „Combining biochemical and ultrasonographic markers in predicting preeclampsia: a systematic review.“ *Clin Chemie*, 2010: 53: 361-375.

Hamad, Rangeen Rafik, Maria J. Eriksson, Elisabeth Berg, und Anders Larson. „Impaired endothelial function and elevated levels of pentraxin 3 in early-onset preeclampsia.“ *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 2012: 91:50-56.

Hrabac, P. „Basic Concept of the study.“ Salzburg, 2008.

Julkunen, H. „Renal lupus in pregnancy.“ *Scand J Rheumatol* 112. 107 (1998): 80-3.

Kaisenberg von C.S., Steiner H. „Plazentationsstörungen und feto-maternale Erkrankungen.“ In *Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie*, 90-103. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2012.

Koga, K, Y Osuga, und O Yoshino. „Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia.“ *J Clin Endocrinol. Metab*, 2003: 88: 2348-51.

Lachmeijer AM, Dekker GA, Pais G, Aarnoudse JG, Kate LP, Arngrimsson R. „Searching for preeclampsia genes: the current position.“ *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 105 (2002): 94-113.

Larsson, Anders, Maria Palm, Johanna Helmersson, und Ove Axelsson. „Pentraxin 3 Values During Normal Pregnancy.“ *Inflammation*, 5.. October 2011: 448-451.

Latini R, Maggioni AP, Peri G, Gonzini L, Lucci D, Mocarelli P, Vago L, Pasqualini F, Signorini S, Soldateschi D, Tarli L, Schweiger C, Fresco C, Cecere R, Tognoni G, Mantovani A. „Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction.“ *Circulation* 110 (2004): 2349–54.

Levine, RJ., und SA. Karumanchi. *Circulating angiogenic factors in preeclampsia*. 2005.

Li, D.K. and S. Wi. „Changing paternity and the risk of preeclampsia/eclampsia in the subsequent pregnancy. *Am J Epidemiol*, 2000. 151(1): p. 57-62.“ *Am J Epidemiol* 151(1) (2000): 57-62.

Martin, AM, R Bindra, P Curcio, S Cicero, und KH Nicolaides. „Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation.“ *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2001: 18:583-586.

Mattar F, Sibai BM. „Eclampsia. VIII. Risk factors for maternal morbidity.“ *Am J Obstet Gynecol* 182 (2000): 307-312.

Maynard, SE; Min, JY; Merchand, J. „Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension and proteinuria in preeclampsia.“ *J Clin Invest*, 2003: 111: 649-58.

Muller B, Peri G, Doni A, Torri V, Landmann R, Bottazzi B, Mantovani A. „Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients.“ *Crit Care Med* 29 (2001): 1404–7.

Murakami S, Saitoh M, Kubo T, Koyama T, Kobayashi M. „Renal disease in women with severe preeclampsia or gestational proteinuria.“ *Obstet Gynecol* 96 (2000): 945-9.

Ohkushi, A; Hirashima, C; Matsubara, S. „Alterations in placental growth factor levels before and after the onset of preeclampsia are more pronounced in women with early preeclampsia.“ *Hypertens. Res.*, 2007: 30: 151-9.

Ostermayer, E. „Dopplersonografie in der Frühschwangerschaft.“ In *Dopplersonografie in Geburtshilfe und Gynäkologie*, von H. Steiner und K.T.M. Schneider, 113 - 126. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2008.

Papageorghiou AT, Cetin I, Maina V, Garlanda C, Thilaganathan B. „Elevation of Pentraxin (PTX3) levels in the first trimester of pregnancy in women with subsequent pre-eclampsia.“ *Oral poster abstract at the 17th World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2007.

Paramita, Baruah et al. „The tissue pentraxin PTX3 limits C1q-mediated complement activation and phagocytosis of apoptotic cells by dendritic cells *J Leukoc Biol*. 2006; 80(1):87-95.“ *J Leukoc Biol*, 2006: 87-95.

Peri G, Introna M, Corradi D, Iacuitti G, Signorini S, Avanzini F, Pizzetti F, Maggioni AP, Moccetti T, Metra M, Cas LD, Ghezzi P, Sipe JD, Re G, Olivetti G, Mantovani A, Latini R. „PTX3, A prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans.“ *Circulation*, 2000: 636–41.

Pijnenborg, R., et al. „Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy.“ *Br J Obstet Gynaecol*, 1991: 648-55.

Poon L, Staboulidou I, Maiz N, Plasencia W, Nicolaides K. „Hypertensive disorders in pregnancy: screening by uterine artery Doppler at 11-13 weeks.“ *Ultrasound Obstet Gynecol* , 2009: 34:142-148.

Poon, L.C.Y., R. Akolekar, R. Lachmann, J. Beta, und K.H. Nikolaides. „Hypertensive disorders in pregnancy: screening by biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks.“ *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2010: 35; 662-670.

Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH. „Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled tri-al.“ 2006: 1145-54.

Rath W, Fischer T, Klockenbusch W. „Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Schwangerschaftshochdruck/Gestose der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGOG).“ 2010.

Rath, W, W Loos, H Graeff, und W Kuhn. „Das HELLP-Syndrom.“ *Gynäkologe* 237, 1995: 430-440.

Redman, C.W., G.P. Sacks, and I.L. Sargent. „Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy.“ *Am J Obstet Gynecol*, 1999: 499-506.

Roberts, JM. „Pregnancy related hypertension.“ ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998.

Rovere-Querini P, Antonacci S, Dell'antonio G, Angeli A, Almirante G, Cin ED, Valsecchi L, Lanzani C, Sabbadini MG, Doglioni C, Manfredi AA, Castiglioni MT. „Plasma and tissue expression of the long pentraxin 3 during normal pregnancy and preeclampsia.“ *Obstet Gynecol*, 2006: 148–55.

Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS. „ACTS Study Group. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications.“ *Engl J Med*, 2006: 1796-806.

Salustri A, Garlanda C, Hirsch E, De Acetis M, Maccagno A, Bottazzi B, Doni A, Bastone A, Mantovani G, Beck Peccoz P, Salvatori G, Mahoney DJ, Day AJ, Siracusa G, Romani L, Mantovani A. „PTX3 plays a key role in the organization of the cumulus oophorus extracellular matrix and in in vivo fertilization.“ *Development*, 2004: 1577–86.

Schaffer H., Steiner H. „Technik der Blutflussmessung in der Geburtshilfe.“ 2008: 29-31.

Schaffer, H. „Doppler-Referenzkurven.“ In *Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie*, von H. Steiner und K.T.M. Schneider, 326. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2008.

Tong M, Carrero JJ, Qureshi AR, Anderstam B, Heimbürger O, Barany P, Axelsson J, Alverstrand A, Stenvinkel P, Lindholm B, Suliman M. „Plasma Pentraxin 3 in chronic kidney disease 12 patients: association with renal function, protein-energy wasting, cardiovascular disease and mortality.“ *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007: 889–97.

Vainio M, Kujansuu E, Iso-Mustajärvi M, Mäenpää J. „Low dose acetylsalicylic acid in prevention of pregnancy-induced hypertension and intrauterine growth retardation in women with bilateral uterine artery notches.“ *BJOG*, 2002: 161-167.

Waterstone M, Bewley S, Wolfe C. „Incidence and predictors of severe obstetric morbidity. Casecontrol study.“ *BMJ*, 2001: 1089-94.

Weinstein, L. „Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. Am J Obstet Gynaecol 1982;142:159-67.“ *Am J Obstet Gynaecol*, 1982: 159-67.

Yu CKH, Smith GCS, Papageorgiou AT, Cacho AM, Nicolaides KH. „An integrated model for the prediction of preeclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low-risk women.“ *Am J Obstet Gynecol*, 2005: 429-36.

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Typische fünfeckige Molekülstruktur der Pentraxine (Hrabac 2008)	14
Abbildung 2: Pentraxin-3 produzierende Zellen (Garlanda C 2005)	15
Abbildung 3: Rolle der Pentraxine in der angeborenen Immunabwehr (modifiziert nach Garlanda C 2005)	16
Abbildung 4: normales Dopplersonogramm der A. uterina im ersten Trimenon	24
Abbildung 5: normales Dopplersonogramm der A.uterina im dritten Trimenon	25
Abbildung 6: pathologisches Dopplersonogramm der A.uterina im 1. und 2. Trimenon mit Notching.....	25
Abbildung 7: Flussdiagramm des Studienverlaufes	29
Abbildung 8: mittlerer PI im Schwangerschaftsverlauf.....	34
Abbildung 9: Zeiteffekte der PTX-3-Konzentration zwischen den einzelnen Abnahmeintervallen	36
Abbildung 10: PTX-3-Konzentrationen im Schwangerschaftsverlauf.....	37
Abbildung 11: PTX-3-Konzentration im 1. Trimenon (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)	38
Abbildung 12: PTX-3-Konzentration im 2. Trimenon (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)	38
Abbildung 13: PTX-3-Konzentration im 3. Trimenon (Regressionslinien mit Konfidenzintervall)	39
Abbildung 14: postpartale PTX-3-Konzentration (Regressionslinien mit Konfidenzintervall).....	40
Abbildung 15: mittlerer PI der PE und SGA (mit Konfidenzintervall).....	43
Abbildung 16: PTX-3-Werte der PE und SGA (mit Konfidenzintervall)	43

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Risikoabschätzung anhand mütterlicher anamnestischer Daten.....	13
Tabelle 2: Studienprotokoll	22
Tabelle 3: Charakterisierung des gesamten Patientenkollektivs.....	30
Tabelle 4: Blutdruck und Puls im Verlauf (Mittelwerte mit Standardabweichung und Minimal-und Maximalwerten)	31
Tabelle 5: Morphologische Daten zur Geburt	32
Tabelle 6: Geburtsmodus	32
Tabelle 7: Pulsatility-Indices (Mittelwerte mit Standardabweichung und Minimal- bzw. Maximalwerten) der Doppleruntersuchungen an der A.uterina.....	33
Tabelle 8: Notches.....	34
Tabelle 9: PTX-3-Konzentrationen (in ng/ml).....	35
Tabelle 10: Regressionsanalyse mit PTX-3 als abhängige Variable	41

7.4 Case Report Form (CRF)

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



CASE REPORT FORM

Pentraxin 3: discriminative and quantitative biomarker of endothelial dysfunction in normal pregnancy and women destined to develop preeclampsia

A Prospective Study

Country - Please circle

AT CRO DE IT POL UK

Centre No.

|_|_|

Subject No.

|_|_|_|_|

Subject's Initials

|_|_|

Investigator

Centre

**Name, signature and facsimile of
the investigator:**

Sponsor:

**CYATHUS Exquirere
Pharmaforschungs GmbH
Rudolfplatz 2/8
1010 Vienna
Austria**

STUDY VISITS

Visit (weeks of pregnancy)	Day	Month	Year	Mandatory	Done*	Not Done*
8			20			
11-14			20	<input checked="" type="checkbox"/>		
18-22			20	<input checked="" type="checkbox"/>		
26-28			20			
34-36			20	<input checked="" type="checkbox"/>		
Delivery			20	<input checked="" type="checkbox"/>		
1 week after delivery			20	<input checked="" type="checkbox"/>		
12 weeks after delivery			20			

* please mark with x at either "Done" or "Not Done" column

CRF LABEL

Please place here the label from the labels page of this CRF. Label should be filled with the centre/patient numbers combination as explained in study materials.



Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | | |

8 W

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 8 weeks of pregnancy
Blood taken for the PTX3 level assessment: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO
Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

VITAL SIGNS

Blood press.: _____ / _____ mm Hg systolic diastolic

URINE DIP-STICK TEST

Results of the test: <input type="checkbox"/> NORMAL <input type="checkbox"/> ABNORMAL* <input type="checkbox"/> NOT DONE
Finding: + ++ +++ Comment:

* in case of the abnormal test, please circle the correct results and comment below.

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

DEMOGRAPHICS

Subject's Initials: <small>Name - Family name</small>	Date of Birth: <small>dd mm yy</small>
Age: years	Code:
Height: cm	Weight: kg
Ethnical Group: <input type="checkbox"/> Caucasian <input type="checkbox"/> Other, please state: _____	

8 or 11-14 w

Screening / Inclusion

HABITS

Before this pregnancy

Smoking <input type="checkbox"/> 0 = non-smoker 1 = 1-15 cigarettes/day 2 = > 15 cigarettes/day	Alcohol <input type="checkbox"/> 0 = no 1 = sporadic 2 = daily
--	---

During this pregnancy

Smoking <input type="checkbox"/> 0 = non-smoker 1 = 1-15 cigarettes/day 2 = > 15 cigarettes/day	Alcohol <input type="checkbox"/> 0 = no 1 = sporadic 2 = daily
--	---

PREVIOUS PREGNANCIES

Number of previous pregnancies:
All previous pregnancies had favorable outcome: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO*
*Comment:

* if the answer is "NO", please comment in the field below.

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | | |

CONCOMITANT MEDICATION

Does the subject currently receive any concomitant medication?

☐ YES* ☐ NO

*If "Yes", please complete CRF page at the end of this document.

CONCOMITANT DISEASES

Does the subject currently have any significant concomitant diseases?

☐ YES* ☐ NO

*If "Yes", please enter in the table below.

	If abnormal, please mark with x and specify.	
General Appearance	<input type="checkbox"/>	
Skin	<input type="checkbox"/>	
Eyes, Ears, Nose, Throat	<input type="checkbox"/>	
Neck (incl. thyroid)	<input type="checkbox"/>	
Heart	<input type="checkbox"/>	
Lung	<input type="checkbox"/>	
Abdomen	<input type="checkbox"/>	
Genito-Urinary	<input type="checkbox"/>	
Extremities	<input type="checkbox"/>	
Neurological findings	<input type="checkbox"/>	
Other significant findings	no <input type="checkbox"/>	yes <input type="checkbox"/>

8 or 11-14 w
Screening / Inclusion

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

PHYSICAL EXAMINATION

Physical examination of the subject is without abnormalities:

☐ TRUE ☐ NOT TRUE*

*If "Not true", please enter in the table below.

Body System	Past affections no	yes	Please mark with x if ongoing	If ongoing, please specify
Eyes, Ears, Nose, Throat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratory	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrointestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Genito-Urinary	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Musculoskeletal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Endocrine and Metabolic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hematopoietic and Lymphatic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dermatological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Psychological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

8 or 11-14 w

Screening / Inclusion

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | | |

GYNECOLOGICAL EXAMINATION

Were there any bleedings in this pregnancy?

☐ YES ☐ NO

Gynecological examination of the subject is without abnormalities:

☐ TRUE ☐ NOT TRUE*

*If "Not true", please enter in the table below.

Body System	Normal finding		Not done	If abnormal, please specify
	no	yes		
Vulva (pudenda)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Vagina (birth canal)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Portio vaginalis uteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Uterus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Vaginal endo- Cervical smear	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Adnexa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Other (please specify)				

8 or 11-14 w

Screening / Inclusion

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

INCLUSION CRITERIA

Please tick (☒)	YES	NO
Healthy pregnant women aged 18 to 45 years. Untreated hypertension is not an exclusion criterion.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Subject who, in the opinion of the investigator, would understand the meaning of the information sheet, would be co-operative and sufficiently reliable to complete the study procedures.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Subject has provided written informed consent prior to undergoing any study procedure.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

EXCLUSION CRITERIA

Please tick (☒)	YES	NO
Preeclampsia or Eclampsia during previous pregnancies, either documented by medical records or suspected by the investigator from the anamnestic data.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Atherosclerosis under treatment.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hypertension under treatment.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diabetes mellitus.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Subject is mentally not capable of adhering to the protocol.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Malignant disease.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Drug addiction.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alcoholism.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Known positive HIV-infection.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Multiple pregnancies (twin, triple or more).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Previous uterine surgery not including Caesarian section.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fetal aneuploidy,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fetal anomalies including fetal malformation,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Auto-immune diseases of the mother including thrombotic thrombocytopenic purpura,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hemolytic uremic syndrome,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acute fatty liver,	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Epilepsy.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

8 or 11-14 w

Screening / Inclusion

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |

Subject No.: | | | | |

8 or 11-14 w

Screening / Inclusion

INFORMED CONSENT

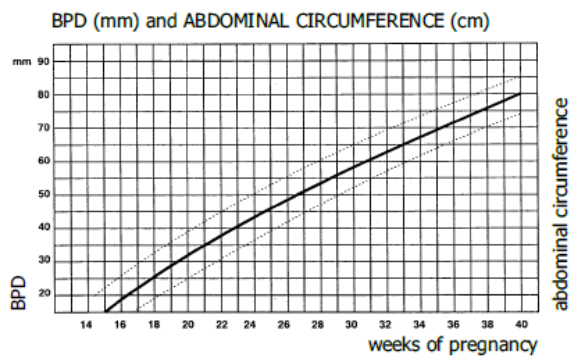
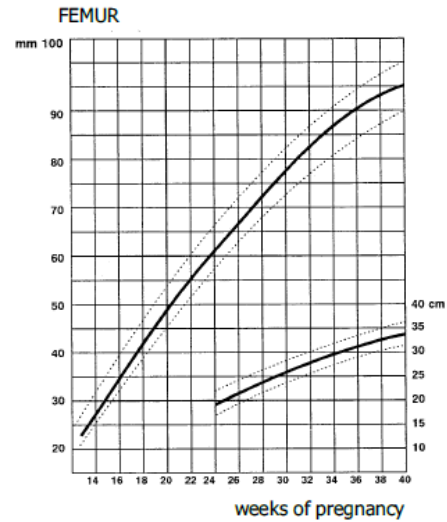
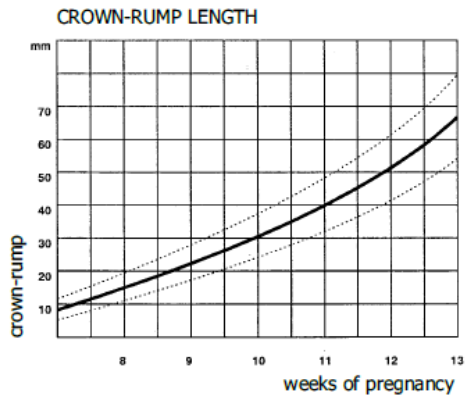
I have informed the subject about the procedures and the aims of the present study, and about the existence of a Liability Insurance which protects against health damage caused by the administered study drugs and the operations and/or instrumental examinations carried out as planned in the study protocol. Therefore,

I DECLARE THAT

- The subject gave her consent voluntarily in writing.
- The subject was duly informed about the possibility to interrupt the participation to the study at any time and without the obligation to explain her reasons.

Date: ____/____/____ Investigator's signature*: _____
 dd mm yy

* Please note that the investigator signed here must be the same person signed at the cover page of the CRF.



GESTATIONAL AGE

Estimated gestational age: | | weeks + | | days

VITAL SIGNS

Blood press.: _____ / _____ mm Hg
 systolic diastolic

Pulse: | | | beats/min

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

UTERINE ARTERIES INDICES

LEFT	RIGHT
Pulsatility:	Pulsatility:
Notches:	Notches:
Other:	Other:
Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE	Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE

11-14 w

Study Assessments

PLACENTA

Abnormalities of the placenta: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NOT DONE
Comment:

* if yes, please comment below

URINE DIP-STICK TEST

Results of the test: <input type="checkbox"/> NORMAL <input type="checkbox"/> ABNORMAL* <input type="checkbox"/> NOT DONE
Finding: + ++ +++
Comment:

* in case of the abnormal test, please circle the correct results and comment below.

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 11-14 weeks of pregnancy
Blood taken for the PTX3 level assessment: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO
Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

VITAL SIGNS

Blood press.: / mm Hg systolic diastolic	Pulse: beats/min
--	---

CONCOMITANT MEDICATION

Were there any changes in subject's concomitant medication since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please complete CRF page at the end of this document.

CONCOMITANT DISEASES

Were there any changes in subject's concomitant diseases since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

PHYSICAL STATUS AND WEIGHT

Were there any changes in subject's physical status (besides the changes expected during the pregnancy) since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

Subject weight at this visit: | | | | kg

GYNECOLOGICAL STATUS

Were there any changes in subjects's gynecological status (besides the changes expected during the pregnancy) since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

18-22 w

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | | |

UTERINE ARTERIES INDICES

LEFT	RIGHT
Pulsatility:	Pulsatility:
Notches:	Notches:
Other:	Other:
Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE	Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE

18-22 w

PLACENTA

Abnormalities of the placenta: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NOT DONE
Comment:

* if yes, please comment below

URINE DIP-STICK TEST

Results of the test: <input type="checkbox"/> NORMAL <input type="checkbox"/> ABNORMAL* <input type="checkbox"/> NOT DONE
Finding: + ++ +++
Comment:

* in case of the abnormal test, please circle the correct results and comment below.

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 18-22 weeks of pregnancy
Blood taken for the PTX3 level assessment: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO
Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

VITAL SIGNS

Blood press.: / mm Hg systolic diastolic	Pulse: beats/min
---	---

CONCOMITANT MEDICATION

Were there any changes in subject's concomitant medication since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please complete CRF page at the end of this document.

CONCOMITANT DISEASES

Were there any changes in subject's concomitant diseases since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

26-28 w

PHYSICAL STATUS AND WEIGHT

Were there any changes in subject's physical status (besides the changes expected during the pregnancy) since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

Subject weight at this visit: | | | | kg

GYNECOLOGICAL STATUS

Were there any changes in subjects's gynecological status (besides the changes expected during the pregnancy) since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

UTERINE ARTERIES INDICES

LEFT	RIGHT
Pulsatility:	Pulsatility:
Notches:	Notches:
Other:	Other:
Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE	Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE

PLACENTA

Abnormalities of the placenta:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NOT DONE
Comment:			

* if yes, please comment below

URINE DIP-STICK TEST

Results of the test:	<input type="checkbox"/> NORMAL	<input type="checkbox"/> ABNORMAL*	<input type="checkbox"/> NOT DONE
Finding:	+	++	+++
Comment:			

* in case of the abnormal test, please circle the correct results and comment below.

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 26-28 weeks of pregnancy		
Blood taken for the PTX3 level assessment:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO
Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

26-28 w

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

VITAL SIGNS

Blood press.: / mm Hg systolic diastolic	Pulse: beats/min
--	--

CONCOMITANT MEDICATION

Were there any changes in subject's concomitant medication since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please complete CRF page at the end of this document.

CONCOMITANT DISEASES

Were there any changes in subject's concomitant diseases since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

PHYSICAL STATUS AND WEIGHT

Were there any changes in subject's physical status (besides the changes expected during the pregnancy) since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

Subject weight at this visit: | | | | kg

GYNECOLOGICAL STATUS

Were there any changes in subjects's gynecological status (besides the changes expected during the pregnancy) since last study visit?

☐ YES ☐ NO

*If "Yes", please comment below.

Comment:

34-36 w

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

UTERINE ARTERIES INDICES

LEFT	RIGHT
Pulsatility:	Pulsatility:
Notches:	Notches:
Other:	Other:
Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE	Please tick if not done: <input type="checkbox"/> NOT DONE

PLACENTA

Abnormalities of the placenta:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NOT DONE
Comment:			

* if yes, please comment below

URINE DIP-STICK TEST

Results of the test:	<input type="checkbox"/> NORMAL	<input type="checkbox"/> ABNORMAL*	<input type="checkbox"/> NOT DONE
Finding:	+	++	+++
Comment:			

* in case of the abnormal test, please circle the correct results and comment below.

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 34-36 weeks of pregnancy		
Blood taken for the PTX3 level assessment:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO
Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

34-36 w

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

DELIVERY

Spontaneous delivery:	<input type="checkbox"/> YES	<input type="checkbox"/> NO*
Comment:		
Induced delivery:	<input type="checkbox"/> YES*	<input type="checkbox"/> NO
Comment:		
Estimated gestational age:	weeks +	days
Birth weight (child):	g	Percentile:
Weight of the placenta:	g	
Length:	cm	
Sex:	<input type="checkbox"/> F	<input type="checkbox"/> M

* please comment below

OTHER ABNORMALITIES

Cesarean section:

☐ YES ☐ NO

Instrumental delivery (VE, forceps):

☐ YES ☐ NO

Delivery

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 1 week post-delivery
Blood taken for the PTX3 level assessment: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO
Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken: <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

+1w

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |
Subject No.: | | | | |

PTX3 LEVEL ASSESSMENT

Time point: 12 weeks post-delivery

Blood taken for the PTX3 level assessment: ☐ YES ☐ NO

Blood processed within 1.5 (one and a half) hours after it was taken:
☐ YES ☐ NO*

* If not processed (centrifuged, aliquoted and frozen) within one and a half hours after the specimen was taken, the specimen is considered to be unusable for the purposes of the study.

VITAL SIGNS

Blood press.: _____ / _____ mm Hg
systolic diastolic

URINE DIP-STICK TEST

Results of the test: ☐ NORMAL ☐ ABNORMAL* ☐ NOT DONE

Finding: + ++ +++

Comment:

* in case of the abnormal test, please circle the correct results and comment below.

PREECLAMPSIA / ECLAMPSIA IN THIS SUBJECT

Comments*:

* If you have any comments regarding preeclampsia/eclampsia in this subject, please enter it here.

+12 w

CONCOMITANT MEDICATION

Drug/Substance	Pharmaceutical Form	Dose per unit	Route*	Total daily dose	Date started	Tick if ongoing	Date stopped	Indication
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								

* Route: 1 = oral; 2 = IV; 3 = IM; 4 = SC; 5 = rectal; 6 = transdermal; 7 =inhalation; 8 = topical; 9 = vaginal; 10 = ophthalmic; 11 = other (please specify inside the table under the "route" column)
Please note: For reporting a **change of dosage** of the same medication, please report the stop date for the previous dosage regimen, and in a new row the same medication, with the new dosage and the starting date for the new dosage.

Concomitant Medication

CONCOMITANT MEDICATION

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08

CATHUS
Centre No.:
Subject No.:

Drug/Substance	Pharmaceutical Form	Dose per unit	Route*	Total daily dose	Date started	Tick if ongoing	Date stopped	Indication
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								
Trade name					dd mm yy	<input type="checkbox"/>	dd mm yy	
Active ingredients								

* Route: 1 = oral; 2 = IV; 3 = IM; 4 = SC; 5 = rectal; 6 = transdermal; 7 = inhalation; 8 = topical; 9 = vaginal; 10 = ophthalmic; 11 = other (please specify inside the table under the "route" column)
Please note: For reporting a **change of dosage** of the same medication, please report the stop date for the previous dosage regimen, and in a new row the same medication, with the new dosage and the starting date for the new dosage.

Concomitant Medication

ADVERSE EVENTS

Pentrixin 3	Centre No.:
Study No.: CYT/PTX3/08	Subject No.:

CATHUS

Description (one per line)	Date and time (24hr) of onset	Type	Date and time (24hr) of resolution (if applicable)	Seriousness (I)	Intensity (II)	Action taken (III)	Outcome (IV)
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				

(I) Seriousness:
1=Not serious
2=SERIOUS
INCLUDING
PREECLAMPSIA

(II) Intensity:
1=Mild*
2=Moderate*
3=Severe*

(III) Action taken (more than one may apply):
1=None
2=Specific therapy/medication ()
3=(prolonged) hospitalization
() =Please, specify

(IV) Outcome:
1=Recovered
2=Recovering
3=Not recovered
4=Recovered with sequelae
5=Died
6=Unknown

Please inform the study responsible immediately (within the next working day). Subsequently, please fill in the Investigational Serious Adverse Event Report Form.

Adverse Events

ADVERSE EVENTS

Pentrxin 3

Study No.: CYT/PTX3/08

CATHUS

Centre No.: | | | |

Subject No.: | | | |

Description (one per line)	Date and time (24hr) of onset	Type	Date and time (24hr) of resolution (if applicable)	Seriousness (I)	Intensity (II)	Action taken (III)	Outcome (IV)
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				
	dd mm yy hh mm	Single episode Continuing Recurrent ¹ ¹ No. of Episodes	dd mm yy hh mm				

(I) Seriousness: (II) Intensity: (III) Action taken (more than one may apply): (IV) Outcome:

- 1=Not serious
2=SERIOUS
3=Severe*
INCLUDING
PREECLAMPSIA
- 1=Mild*
2=Moderate*
3=Severe*
() =Prolonged hospitalization
() =Please, specify
- 1=None
2=Specific therapy/medication
3=(prolonged) hospitalization
() =Please, specify
- 1=Recovered
2=Recovering
3=Not recovered
4=Recovered with sequelae
5=Died
6=Unknown

Please inform the study responsible immediately (within the next working day). Subsequently, please fill in the Investigational Serious Adverse Event Report Form.

Adverse Events

SERIOUS ADVERSE EVENT

Pentraxin 3

Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | | |

Subject No.: | | | | |

PLEASE COMPILE AND FAX THIS FORM IF SYMPTOMS OF PREECLAMPSIA ARE DETECTED

FORM HAS TO BE SENT WITHIN 24 HOURS FROM THE ONSET OF SYMPTOMS

FAX NUMBER: ++43 (0)1 24 64 66 66

Inclusion date: ____/____/____ dd mm yy **Preeclampsia occurrence date:** ____/____/____ dd mm yy

Subject initials: ____/____ name family name **Subject code:** ____/____/____/____/____/____

Country code (please circle): **AT CRO DE IT POL UK** **Centre :**

Sponsor:

CYATHUS Exquirere
Pharmaforschungs GmbH
Rudolfplatz 2/8
1010 Vienna
Austria

CRO:

Clinres Nova d.o.o.
Kneza Viseslava 11
10000 Zagreb
Croatia
tel.: +385 1 2334 225
fax.: +385 1 2334 223

Serious Adverse Events - PE fax

Pentraxin 3
Study No.: CYT/PTX3/08



Centre No.: | | | |

Subject No.: | | | | |

QUALITY STATEMENT

I confirm that I have personally checked for completion and correctness of the statements in this case report form.

Date, signature of Investigator

Date, signature of Monitor

7.5 Einverständniserklärung

Schwangereninformation und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der klinischen Prüfung

Pentraxin 3: Unterschiedliche und quantitative Biomarker einer Endothelfehlfunktion bei einer normalen Schwangerschaft und Frauen mit der Neigung, Präeklampsie zu entwickeln.

Sehr geehrte Schwangere!

Wir laden Sie ein an der oben genannten klinischen Prüfung teilzunehmen. Die Aufklärung darüber erfolgt in einem ausführlichen ärztlichen Gespräch.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung erfolgt freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie ausscheiden. Die Ablehnung der Teilnahme oder ein vorzeitiges Ausscheiden aus dieser Studie hat keine nachteiligen Folgen für Ihre medizinische Betreuung.

Klinische Prüfungen sind notwendig, um verlässliche neue medizinische Forschungsergebnisse zu gewinnen. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung einer klinischen Prüfung ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser klinischen Prüfung schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrem Arzt sorgfältig durch und zögern Sie nicht Fragen zu stellen.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur

- wenn Sie Art und Ablauf der klinischen Prüfung vollständig verstanden haben,
- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte als Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung im Klaren sind.

Zu dieser klinischen Prüfung, sowie zur Patienteninformation und Einwilligungserklärung wurde von der zuständigen Ethikkommission eine befürwortende Stellungnahme abgegeben.

1. Was ist der Zweck der klinischen Prüfung?

Der Zweck dieser klinischen Prüfung ist es, durch die Bestimmung der Blutspiegel des körpereigenen Eiweißstoffes Pentraxin 3 (PTX 3) in unterschiedlichen Phasen der Schwangerschaft die Nützlichkeit von Pentraxin 3 bei der frühen Diagnose von Präeklampsie zu erforschen. Präeklampsie, auch als Gestose bezeichnet, ist eine weitaus bekannte Komplikation während der Schwangerschaft. Von Präeklampsie sind ungefähr

fünf bis zehn Prozent aller Schwangerschaften betroffen; die Symptome sind meist ein zu hoher Blutdruck und zuviel Eiweiß im Urin. Ödeme, d.h. Wassereinlagerungen im Gewebe treten nicht immer auf, werden aber als ernstzunehmender Hinweis auf eine mögliche Präeklampsie betrachtet. Die Erkrankung tritt meistens erst nach der 20-ten Schwangerschaftswoche auf und kann zu ernsthaften, sogar schweren Komplikationen sowohl für die Mutter als auch für das Baby führen. Die einzige Heilung von Präeklampsie ist die Entbindung. Bei der Diagnose in frühen Phasen der Schwangerschaft werden Sie und Ihr Arzt mit der besonderen Aufgabe konfrontiert, die Schwangerschaft zu verlängern, Ihr Baby so im Mutterleib länger reifen zu lassen, ohne dass Sie oder Ihr Baby dem Risiko der ernsthaften Komplikationen ausgesetzt werden. Die meisten Frauen mit Präeklampsie bekommen gesunde Babys.

Ein Ziel dieser Studie ist es auch, die zur Bestimmung von Pentraxin 3 verwendete Methode zu testen. Der verwendete Enzywel Test Methode ist für eine Routineanwendung im Labor noch nicht zugelassen, und es soll im Rahmen dieser Studie ebenfalls geprüft werden.

2. Wie läuft die klinische Prüfung ab?

Diese klinische Prüfung wird an mehreren Orten durchgeführt, und es werden insgesamt ungefähr 6700 Personen daran teilnehmen.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung wird voraussichtlich 30 Wochen dauern. Bei Ihrem ersten Besuch im Krankenhaus, einem Vorstellungsbesuch, wird Ihr Arzt Sie nach Ihren möglichen früheren Erkrankungen fragen, nach Medikamenten, die Sie aktuell zu sich nehmen, sowie wird eine ärztliche Basisuntersuchung durchführen (einschließlich Puls-, Blutdruck- und Gewichtsmessung). Erwartete Dauer Ihrer Teilnahme an der Studie wird vom Tag der Einwilligungserklärung bis zum Tag Ihrer Entlassung aus dem Krankenhaus nach der Geburt sein. Jedoch können Sie gebeten werden, noch einmal ins Krankenhaus zu kommen und zwar 3 Monate nach der Entbindung. Es könnte notwendig sein, dass noch ein Bluttest gemacht werden soll.

Folgende Maßnahmen werden ausschließlich aus Studiengründen durchgeführt:

Während dieser klinischen Studie werden im Abstand von *ca. 3-8 Wochen* die folgenden Untersuchungen durchgeführt:

- drei Ultraschalluntersuchungen
- 6 Blutentnahmen, je 3-4 ml

Sie werden gebeten, hierzu jeweils in das Krankenhaus zu kommen. Insgesamt sind *ca. 6* Besuche notwendig. Der zeitliche Aufwand pro Besuch beträgt *ungefähr eine Stunde*. Die Einhaltung der Besuchstermine, einschließlich der Anweisungen des Prüfarztes ist von entscheidender Bedeutung für den Erfolg dieser klinischen Studie.

Nach der Blutabnahme werden Ihre Blutproben tiefgekühlt vorerst in Ihrem Krankenhaus gelagert und dann gemeinsam mit den Proben anderer Teilnehmerinnen dieser Studie in ein Zentrallabor zur Untersuchung transportiert. Der Transport der tiefgekühlten Proben erfolgt durch ein spezialisiertes Unternehmen. Die Blutproben werden im Labor, **Universitäts Abteilung für Labor Medizin, Krankenhaus Desio, Via Mazzini 1, 20033 Desio, Mailand, Italien** unter Verantwortung des Laborleiters, **Dr. Stefano Signorini**, bis zur Analyse bei – 80 °C, kontrolliert und über einen Zeitraum von **3 Jahren** nach Einlagerung, aufbewahrt. Danach werden die Blutproben nachweislich und entsprechend den lokalen Vorschriften durch Verbrennung vernichtet.

3. Worin liegt der Nutzen einer Teilnahme an der Klinischen Prüfung?

Es ist möglich, dass Sie durch Ihre Teilnahme an dieser klinischen Studie keinen direkten Nutzen für Ihre Gesundheit oder die Gesundheit Ihres Kindes ziehen. Durch die speziellen Untersuchungen können unter Umständen Schwangerschaftsprobleme frühzeitig erkannt werden.

4. Gibt es Risiken, Beschwerden und Begleiterscheinungen?

Die genannten Messungen stellen kein zusätzliches Risiko für Sie oder Ihr Kind dar. Die Risiken der Teilnahme an dieser Studie werden mit den Verfahren der Studie in Verbindung gebracht, d.h. Ultraschalluntersuchungen und Blutabnahme. Die Ultraschalluntersuchung ist eine schmerzlose und ungefährliche Untersuchungsmethode, und die Blutentnahmen werden zumeist im Rahmen der Routineblutabnahmen durchgeführt. Jedoch können Blutentnahmen im Allgemeinen zu Beschwerden führen, wie etwa Schmerzen, Rötungen oder Blutergüsse an der Einstichstelle. Da diese Prozeduren im Verlauf der Schwangerschaft routinemäßig durchgeführt werden, besteht kein bedeutsames zusätzliches Risiko für Sie und Ihr Baby.

5. Zusätzliche Einnahme von Arzneimitteln?

Sie müssen im Rahmen dieser Studie keine zusätzlichen Medikamente einnehmen und können auch ihr normales Medikament unverändert einnehmen.

6. Was ist zu tun beim Auftreten von Symptomen, Begleiterscheinungen und/oder Verletzungen?

Sollten im Verlauf der klinischen Prüfung irgendwelche Symptome, Begleiterscheinungen oder Verletzungen auftreten, müssen Sie diese Ihrem Arzt mitteilen, bei schwerwiegenden Begleiterscheinungen umgehend, ggf. telefonisch (Telefonnummern, etc. siehe unten).

7. Versicherung

Als Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung besteht für Sie der gesetzlich vorgeschriebene verschuldensunabhängige Versicherungsschutz (Personenschadenversicherung gemäß § 47 Medizinproduktegesetz), der alle Schäden abdeckt, die an Ihrem Leben oder Ihrer Gesundheit durch die an Ihnen durchgeführten Maßnahmen der klinischen Prüfung verursacht werden können, mit Ausnahme von Schäden auf Grund von Veränderungen des Erbmateri als in Zellen der Keimbahn.

Die Versicherung wurde für Sie bei der HDI Versicherungs-AG, Edelsinnstraße 7-11, A-1120 Wien, Österreich, Telefonnummer: 050 905-0 unter der Polizzennummer 1326992 abgeschlossen. Auf Wunsch können Sie in die Versicherungsunterlagen Einsicht nehmen.

Im Schadensfall können Sie sich direkt an den Versicherer wenden und Ihre Ansprüche selbstständig geltend machen. Für den Versicherungsvertrag ist österreichisches Recht anwendbar, die Versicherungsansprüche sind in Österreich einklagbar.

Zur Unterstützung können Sie sich auch an die Patientenanwaltschaft oder Patientenvertretung wenden.

Um den Versicherungsschutz nicht zu gefährden

- dürfen Sie sich während der Dauer der klinischen Prüfung einer anderen medizinischen Behandlung nur im Einvernehmen mit Ihrem behandelnden Prüfarzt, unterziehen (**ausgenommen davon sind Notfälle**). Dies gilt auch für die zusätzliche Einnahme von Medikamenten.
- müssen Sie sich dem behandelnden Prüfarzt - oder der oben genannten Versicherungsgesellschaft - eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der klinischen Prüfung eingetreten sein könnte, unverzüglich mitteilen.

8. Wann wird die klinische Prüfung vorzeitig beendet?

Sie können jederzeit auch ohne Angabe von Gründen, Ihre Teilnahmebereitschaft widerrufen und aus der klinischen Prüfung ausscheiden ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile für Ihre weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ihr Prüfarzt wird Sie über alle neuen Erkenntnisse, die in Bezug auf diese klinische Prüfung bekannt werden, und für Sie wesentlich werden könnten, umgehend informieren. Auf dieser Basis können Sie dann Ihre Entscheidung zur **weiteren** Teilnahme an dieser klinischen Prüfung neu überdenken.

Es ist aber auch möglich, dass Ihr Prüfarzt (oder gegebenenfalls der Auftraggeber dieser klinischen Prüfung) entscheidet, Ihre Teilnahme an der klinischen Prüfung vorzeitig zu beenden, ohne vorher Ihr Einverständnis einzuholen. Die Gründe hierfür können sein:

- a) Sie können den Erfordernissen der Klinischen Prüfung nicht entsprechen;
-

- b) Ihr behandelnder Arzt hat den Eindruck, dass eine weitere Teilnahme an der klinischen Prüfung nicht in Ihrem Interesse ist;
- c) der Auftraggeber trifft die Entscheidung, die gesamte klinische Prüfung abzuberechnen, oder lediglich Ihre Teilnahme vorzeitig zu beenden.

Sofern Sie sich dazu entschließen, vorzeitig aus der klinischen Prüfung auszusteigen, oder Ihre Teilnahme aus einem der oben genannten Gründe vorzeitig beendet wird, ist es für Ihre eigene Sicherheit wichtig, dass Sie sich einer normalen Kontrolluntersuchung unterziehen. Diese besteht meistens aus einer körperlichen Untersuchung sowie aus Laboruntersuchungen.

9. In welcher Weise werden die im Rahmen dieser klinischen Prüfung gesammelten Daten verwendet?

Sofern gesetzlich nicht etwas anderes vorgesehen ist, haben nur die Prüfer/innen und deren Mitarbeiter/innen Zugang zu den vertraulichen Daten, in denen Sie namentlich genannt werden („personenbezogene“ Daten). Weiters können Beauftragte von in- und ausländischen Gesundheitsbehörden, der zuständigen Ethikkommission, sowie – wenn zutreffend – des Auftraggebers der klinischen Prüfung Einsicht in diese Daten nehmen, um die Richtigkeit der Aufzeichnungen zu überprüfen. Diese Personen unterliegen einer gesetzlichen Verschwiegenheitspflicht.

Die Weitergabe der Daten im In- und Ausland erfolgt ausschließlich zu statistischen Zwecken in verschlüsselter (nur „indirekt personenbezogener“) oder anonymisierter Form, das heißt, Sie werden nicht namentlich genannt. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieser klinischen Prüfung werden Sie nicht namentlich genannt.

Die Prüfer/innen und ihre Mitarbeiter/innen unterliegen im Umgang mit den Daten den Bestimmungen des österreichischen Datenschutzgesetzes 2000 in der jeweils geltenden Fassung.

Wenn Sie Ihre Einwilligung zurückziehen und damit Ihre Teilnahme vorzeitig beenden, werden keine neuen Daten mehr über Sie erhoben. Auf Grund gesetzlicher Dokumentationspflichten (Medizinproduktegesetz) kann jedoch weiterhin für einen gesetzlich festgelegten Zeitraum eine Einsichtnahme in Ihre personenbezogenen Daten zu Prüfzwecken durch autorisierte, zur Verschwiegenheit verpflichtete Personen erfolgen.

10. Entstehen für die Teilnehmer Kosten?

Durch Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung entstehen für Sie keine zusätzlichen Kosten.

11. Möglichkeit zur Diskussion weiterer Fragen

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit dieser klinischen Prüfung stehen Ihnen Ihr Prüfarzt und seine Mitarbeiter gern zur Verfügung. Auch Fragen, die Ihre Rechte als Patient und Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet.

Name der Kontaktperson: Doz. Dr. Horst Steiner

Ständig erreichbar unter: 0662 4482 579 32

Name der Kontaktperson: Dr. Christian Zuchna

Ständig erreichbar unter: 0662 4482 2584

Name der Kontaktperson: Dr. Walter Schneider

Ständig erreichbar unter: 0662 4482 2584

12. Einwilligungserklärung

Name des Patienten in Druckbuchstaben:

Geb.Datum: Code:

Ich erkläre mich bereit, an der klinischen Prüfung „**Pentraxin 3: Unterschiedliche und quantitative Biomarker einer Endothelfehlfunktion bei einer normalen Schwangerschaft und Frauen mit der Neigung, Präeklampsie zu entwickeln**“ teilzunehmen.

Ich bin von Herrn/Frau (*Dr.med.*) _____ ausführlich und verständlich über mögliche Belastungen und Risiken, sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung, die bestehende Versicherung sowie die sich für mich daraus ergebenden Anforderungen aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text dieser Patientenaufklärung und Einwilligungserklärung, die insgesamt 7 Seiten umfasst gelesen. Aufgetretene Fragen wurden mir vom Prüfarzt verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich werde den ärztlichen Anordnungen, die für die Durchführung der klinischen Prüfung erforderlich sind, Folge leisten, behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige

Mitwirkung jederzeit zu beenden, ohne dass mir daraus Nachteile für meine weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser klinischen Prüfung ermittelten Daten gespeichert werden. Mir ist bekannt, dass zur Überprüfung der Richtigkeit der Datenaufzeichnung Beauftragte der zuständigen Behörden, der Ethikkommission und ggf. des Auftraggebers beim Prüfarzt Einblick in meine personenbezogenen Krankheitsdaten nehmen dürfen.

Beim Umgang mit den Daten werden die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes 2000 beachtet.

Eine Kopie dieser Patienteninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt beim Prüfarzt.

.....
(Datum und Unterschrift des Patienten)

.....
(Datum, Name und Unterschrift des verantwortlichen Arztes)

(Der Patient erhält eine unterschriebene Kopie der Patienteninformation und Einwilligungserklärung, das Original verbleibt im Studienordner des Prüfarztes.)

7.6 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Horst Steiner, der mir dieses spannende Thema überlassen hat, herzlich für seine kompetente Unterstützung aber auch für die Möglichkeit, Einblick in die sehr sensible Arbeit einer hochtechnisierten Diagnostik mit hochemotionalen Patientinnen bekommen zu haben. Ich habe durch ihn in stets freundlicher und fachkundiger Weise eine engagierte Betreuung und kritische Begleitung erfahren dürfen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Katrin Karl, die mir ermöglicht hat, diese Arbeit an der LMU zu verwirklichen und einzureichen.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei PD Mag. Dr. Wolfgang Hitzl vom Forschungsbüro Biostatistik der Paracelsus Universität Salzburg, der mir jederzeit mit Rat und Tat in sehr geduldiger und freundlicher Art zur Seite gestanden ist.

Für ihre Zusammenarbeit und Hilfsbereitschaft möchte ich mich bei allen Hebammen und ärztlichen Mitarbeitern der Pränatalambulanz im Salzburger Landeskrankenhaus bedanken, auf die ich bei der Rekrutierung und Untersuchung der Patientinnen angewiesen war und die mich stets voll unterstützt haben.

Mein Dank gilt aber vor allem auch den Patientinnen, die treu und regelmäßig während der Schwangerschaft zu den Untersuchungsterminen gekommen sind und ohne deren Einverständnis und Mitarbeit diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ein besonderes und herzliches Dankeschön gilt meinem Mann und meinen Kindern, die „im Rahmen“ meiner Doktorarbeit immer hinter mir standen und dabei viele Stunden und Tage ohne mich verbringen durften. Deswegen ist ihnen diese Arbeit gewidmet.

7.7 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt zu haben.

Bei der Verfassung wurden keine anderen als die im Text aufgeführten Hilfsmittel verwendet.

Piding, den 20.07.2013

Katharina Flatscher